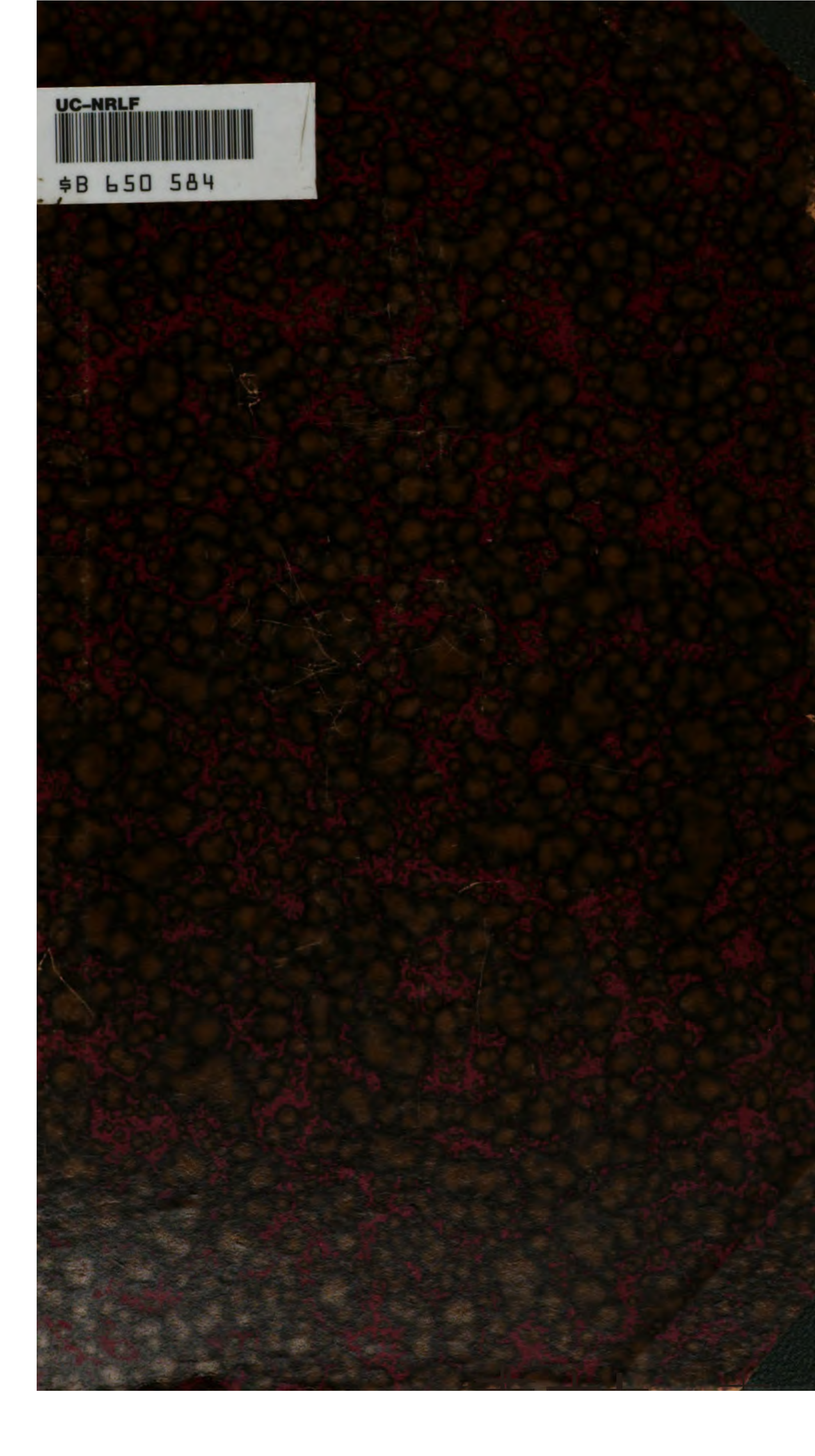

UC-NRLF
$B 650 584


SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
LVX
FIAT
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Breslau, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. E., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Vierundzwanzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1910.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Experimentelle Untersuchungen über den Phlorizindiabetes. II.

Von

A. Erlandsen, Kopenhagen.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institute der Universität Lund.)

(Eingegangen am 26. Dezember 1909.)

Mit 2 Figuren im Text.

In einer vorhergehenden Mitteilung wies ich nach, daß die Aderlaßhyperglykämie bei phlorizinvergifteten Kaninchen unterbleibt und daß die Ursache hierfür ein gesteigertes Eliminationsvermögen für Zucker in den Nieren sein muß, u. a. weil die Zuckerausscheidung im Harn während der Zeit zwischen zwei Aderlässen in einem der unterbliebenen Blutzuckersteigerung entsprechenden Verhältnisse zunimmt. Diese Versuche begann ich auf Anregung des Herrn Prof. I. Bang, der früher[1]) nachgewiesen hatte, daß die Piqûrehyperglykämie während der Phlorizinvergiftung geringer wird als sonst.

Da die Frage bedeutendes Interesse darbietet, untersuchte ich nun der Kontrolle wegen, wie die Phlorizinvergiftung verläuft, wenn man sie mit anderen Eingriffen kombiniert, die bei gesteigerter Zuckerproduktion eine vermehrte Blutzuckerzufuhr bewirken.

Hierzu wählte ich die Adrenalinvergiftung.

Blum[2]) wies zuerst nach, daß das Adrenalin eine Glucosurie hervorruft, die wegen ihres Verlaufes an den Piqûrediabetes erinnert, und mehrere Untersucher [Zuelzer[3]), Metzger[4]), Noël Paton[5]) u. a.]

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 312, 1907.

[2]) Deutsches Arch. f. klin. Med. 71, 46, 1901; Pflügers Archiv, 90, 617, 1902.

[3]) Zitiert nach Noël Paton.

[4]) Berl. klin. Wochenschr. 1901, 1209.

[5]) Journ. of Physiol. 29, 286, 1903.

haben gezeigt, daß die Adrenalinglucosurie mit einer Hyperglykämie, die wieder durch den Schwund des Leberglykogens bedingt wird, in Verbindung steht und von derselben abhängig ist [Doyon und Kareff[1]), Vosburgh und Richards[2])].

Bei der Anwendung der Adrenalinvergiftung zu demselben Zwecke, zu dem ich in früheren Versuchen den Aderlaß benutzte, hat man natürlich zu berücksichtigen, daß die Untersuchung hier kompliziert wird, weil das Adrenalin selbst eine Glucosurie hervorruft. Es war deshalb notwendig, mittels einer Voruntersuchung den Umfang und die Dauer sowohl der Hyperglykämie als auch der Glucosurie nach Adrenalininjektion bei den benutzten Versuchstieren (Kaninchen) festzustellen.

Die Adrenalinvergiftung.

Bei den folgenden Untersuchungen verfuhr ich nach derselben Methode wie in meinen vorhergehenden Versuchen. Ich wandte subcutane Injektion von Adrenalinchlorid (Takamine) an. Die Dosis war die von Gatin-Gruzewska[3]) angegebene: 1 mg pro Kilo (die Stärke der Lösung 1:2000).

Die Angaben über das Verhalten des Blutzuckers nach subcutaner Adrenalininjektion sind im ganzen übereinstimmend. Ich beschränkte deshalb meine Untersuchungen auf die in der Tabelle I angeführten Versuche.

Tabelle I.

Datum	Nr. des Versuches	Gewicht g	Zeit nach der Injektion	Blutzucker I %	Blutzucker II (30 Min. später) %	Leberglykogen	Bemerkungen
26. IV.	24	1900	30 Min.	0,29			
22. VI.	39	3000	4 St.	0,23	0,28	1 bis 2%	Die Glucosurie maximal
14. „	34	2700	12 „	0,10	0,20	Spuren	Die Glucosurie aufgehört
11. „	33	1900	28 „	0,02	0,05	0	Die Glucosurie aufgehört

[1]) Compt. rend. Soc. Biol. 56, 66, 1904.

[2]) Amer. Journ. of Physiol. 9, 35, 1904.

[3]) Compt. rend. Soc. Biol. 60, 940.

Diese bestätigen die Angaben, daß während der ersten Stunden nach der Injektion eine Hyperglykämie besteht, die bereits $^1/_2$ Stunde nach der Injektion eintritt und noch nach 4 Stunden anhält. Darauf nimmt die Blutzuckermenge ab und erreicht zuletzt (NB.! glykogenarme Sommerkaninchen), obwohl die Glucosurie aufgehört hat, subnormale Werte. Die Resultate stimmen mit denen überein, die Vosburgh und Richards[1]) mit Bezug auf Hunde fanden: sie geben an, daß die Hyperglykämie schon 5 Minuten nach der Injektion deutlich ist, und daß sie binnen 3 Stunden ihr Maximum erreicht, um dann wieder gradweise zu sinken, zuweilen bis auf subnormale Werte.

Die Versuche tun also dar, daß sowohl im Anfang als auf dem Gipfel der Glucosurie eine deutliche Hyperglykämie vorhanden ist. Ferner geht aus Tabelle I hervor, daß ein Aderlaß während der Glucosurie oder nach deren Aufhören imstande ist, die Hyperglykämie zu steigern. Hierdurch erweist es sich, daß das Adrenalin sich entschieden gegensätzlich zum Phlorizin verhält, das die Aderlaßhyperglykämie zu neutralisieren vermochte.

Um die Wirkungen der Vergiftung näher zu beleuchten, führe ich die Ergebnisse der Harnuntersuchung in meinen Versuchen an. Diese sind in den Tabellen II und III angegeben. Um ein Bild von dem Verlaufe der Glucosurie zu geben, habe ich die mittleren Werte der Versuche in Fig. 1 graphisch aufgezeichnet.

Die Versuche zeigen, daß die Zuckerausscheidung $^1/_2$ Stunde nach der Adrenalininjektion begonnen hat. Die Zuckerausscheidung steigt rasch während der ersten Stunden und erreicht ihr Maximum in der 3. bis 4. Stunde (vgl. Vosburgh und Richards maximale Hyperglykämie in der 3. Stunde), worauf sie ebenso rasch abnimmt, so daß sie 8 bis 9 Stunden nach der Injektion völlig aufhört. Die Diurese steigt stark während der ersten Stunden, wo sie 20 bis 25 ccm pro Stunde erreicht, sinkt aber rasch wieder, und zwar schneller als die Zuckerausscheidung, so daß die Zuckerkonzentration im Harn allmählich bis zu ihrem Gipfel (5 Stunden nach der Injektion) ansteigt. Zu diesem Zeitpunkt enthält der Harn 8 bis 10% Zucker.

[1]) l. c.

Tabelle II.

Die Zuckerausscheidung im Harn in Gramm pro Stunde angegeben.

Datum	Nr. des Versuchs	Gewicht g	Dosis mg	1/2 St.	1. St.	2. St.	3. St.	4. St.	5. St.	6. St.	7. St.	8. St.	9. St.	10. St.	Leberglykogen
26. IV.	24	1900	1,5	0,09											—
30. „	29	1900	1,9	—	0,39	1,17	1,76	1,48	0,92	0,29	0,04				—
22. VI.	39	3000	3,0	—	1,67 (1.–4. St.)										Nach 4 1/2 St. : 1 bis 2%
11. „	33	1900	1,9	—	0,20	0,86	0,63	0,73	0,44	0,11	0	0	0	0	„ 28 „ : 0
14. „	34	2700	2,7	—	0,04	0,36 (2.–3. St.)		0,96 (4.–6. St.)			0,23	0,02	0,01	0	„ 24 „ : Spuren
Durchschnitt[1]) pro St.				—	0,23	0,61	0,70	0,68	0,53	0,21	0,08	0,01	0	0	

Tabelle III.

Diurese und Zuckerkonzentration im Harn pro Stunde.

Nr. des Versuchs	1/2 St. ccm	1/2 St. %	1. St. ccm	1. St. %	2. St. ccm	2. St. %	3. St. ccm	3. St. %	4. St. ccm	4. St. %	5. St. ccm	5. St. %	6. St. ccm	6. St. %	7. St. ccm	7. St. %	8. St. ccm	8. St. %	9. St. ccm	9. St. %
24	3	0,54																		
29			9,5	4,1	27,5	4,4	28	6,1	16,5	8,7	9,5	9,6	3,5	8,2	1,2	3,3				
39			156 ccm (1.–4. St.)	1,1% (1.–4. St.)																
33			18	1,1	18	4,8	8,3	7,6	7,6	9,6	4,5	9,8	2,0	5,4	19,5 ccm (7.–9. St.)	0,03% (7.–9. St.)				
34			22	0,2	40 ccm (2.–3. St.)	0,9% (2.–3. St.)			28 ccm (4.–5. St.)	4,8% (4.–5. St.)			5,5	4,1	3,5	0,5	3	0,1		
Diurese pro St. in ccm			14,9		26,1		23,8		19,3		9,3		3,7		3,7		4,8			
Zucker %			1,6		2,8		3,9		6,1		8,1		5,9		1,3		0,1			

[1]) Berechnet pro 2 kg Kaninchen.

Es scheint — wie Herter und Wakemann[1]) annehmen — zwischen der Glykogenmenge und der ausgeschiedenen Zuckermenge eine Beziehung zu bestehen. Im Versuch Nr. 29, der im April ausgeführt wurde, wo die Glykogenmenge der Tiere reichlich war, kamen 6,05 g Zucker zur Ausscheidung, während die glykogenarmen Sommerkaninchen nur 1,5 bis 3 g Zucker ausschieden. Dies ist bei der Beurteilung der späteren Versuche selbstverständlich in Betracht zu ziehen.

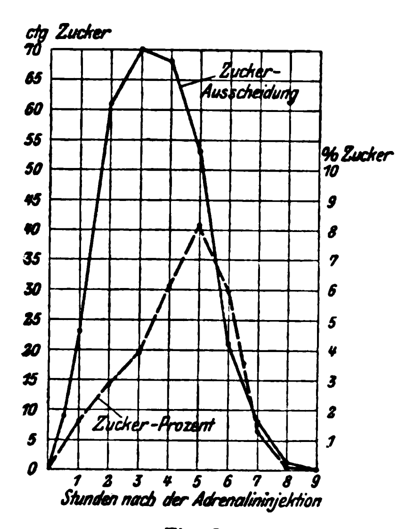


Fig. 1.

Gemeinschaftlich ist allen Versuchen das schnelle Aufhören der Glucosurie. Dieses steht offenbar mit dem raschen Sinken der Blutzuckerkonzentration (siehe Tabelle I) in Zusammenhang. Die Hyperglykämie ist zwischen 4 und 12 Stunden nach der Injektion abgeklungen. Wenn man aus dem Aufhören der Glucosurie auf das Aufhören der Hyperglykämie schließen darf, so tritt letzteres ca. 8 Stunden nach der Injektion ein.

Man hat also guten Grund, sich der Ansicht anzuschließen, daß die Adrenalinglucosurie einem primären Glykogenumsatze in der Leber und einer denselben begleitenden Hyperglykämie zu verdanken ist, und daß die Zucker-

[1]) Virchows Archiv 169, 479, 1902.

ausscheidung mit dem Abklingen der letzteren aufhört. Versuch Nr. 33 zeigt, daß die Adrenalinvergiftung eine ausgesprochene Hypoglykämie bewirken kann, wenn das Glykogendepot in der Leber erschöpft ist. Dies bestätigen Vosburgh und Richards' Angaben. Das Vermögen des Adrenalins, die Glykogendepots schnell und völlig zu erschöpfen, wurde früher von Wolownik[1]), Gatin-Gruzewska[2]) und Agadchanianz[3]) festgestellt.

Während der Adrenalinvergiftung findet also eine rasche und stürmische Zuckerproduktion auf Kosten der Glykogendepots statt. Die hierdurch hervorgerufene Überladung des Blutes bedingt eine starke, mehrstündige Hyperglykämie. Das Adrenalin wirkt mithin auf dieselbe Weise wie der Aderlaß, ruft aber 1. eine stärkere Zuckerproduktion und 2. eine länger dauernde Hyperglykämie hervor.

Da nun sowohl die Adrenalinglucosurie als auch die Phlorizinglucosurie einen typischen Verlauf gezeigt haben, sind die Bedingungen der Untersuchung gegeben.

Damit die Kombination der Adrenalin- mit der Phlorizinvergiftung uns die Frage beantworten kann, ob das Phlorizin das Zuckereliminationsvermögen der Nieren steigert, müssen wir untersuchen:

I. Wie verhält sich der Blutzucker während der kombinierten Vergiftung?

II. Wie verhält sich die Zuckerausscheidung hierbei im Vergleich mit den nicht kombinierten Vergiftungen?

I. Das Verhalten des Blutzuckers während der Phlorizin-Adrenalinvergiftung.

In den folgenden Versuchen wurden erst 0,75 g Phlorizin, in 15 ccm Na_2CO_3-haltigem Wasser gelöst, subcutan injiziert. Nach Verlauf von 2 Stunden — wenn die Phlorizinwirkung also ihren Gipfel erreicht hat — wurde das Adrenalin subcutan eingespritzt (1 mg pro Kilogramm). Die Blutzuckerbestimmungen lieferten umstehendes Ergebnis.

---

[1]) Virchows Archiv 180, 225, 1905.

[2]) Compt. rend. 1906, 1165.

[3]) Diese Zeitschr. 2, 148, 1907.

Tabelle IV.

Datum	Nr. des Versuchs	Gewicht g	Zeit nach d. Adrenalininjektion	1. Aderlaß Blutzucker %	2. Aderlaß (30 Min. später) Blutzucker %	Zunahme d. Blutzuckers %	Bemerkungen
24.IV.	28	3500	35 Min.	0,25	0,30	20	
28.IV.	26	2100	45 Min.	0,32	0,41	22	Reichliches Leberglykogen.

Es erweist sich also hier, wie in Bangs Piqûreversuchen, daß trotz der Phlorizinvergiftung eine Hyperglykämie entsteht. Diese nimmt infolge eines um diesen Zeitpunkt unternommenen Aderlasses sogar noch zu. 30 Minuten nach dem Aderlasse ist die Blutzuckermenge noch ferner um ca. 20% gestiegen. Da dies zu einem Zeitpunkte (ca. 3 Stunden nach der Phlorizininjektion) geschieht, wo man erwarten sollte, die Phlorizinwirkung auf ihrem Gipfel zu finden, befindet das Resultat sich in anscheinendem Widerspruche mit meinen früheren Ergebnissen. Näher betrachtet zeigen die Versuche vielleicht doch nur, daß die Zuckerproduktion während der ersten Adrenalinstunde so gewaltig ist, daß die Nieren nicht imstande sind, die Ausscheidung zu besorgen, d. h. daß das Maximum des Zuckereliminationsvermögens überschritten ist. Für diese Auffassung spricht, daß ein Aderlaß die Hyperglykämie noch ferner steigert, während in den reinen Phlorizinversuchen der Aderlaß zu diesem Zeitpunkte keine Blutzuckerzunahme bewirkt. Die Antwort müssen wir uns durch die Untersuchung des Harns verschaffen.[1])

II. Die Zuckerausscheidung während der Phlorizin-Adrenalinvergiftung.

Die Zuckerbestimmungen wurden wie in früheren Versuchen ausgeführt. In den Tabellen V und VI sind die Versuchsresultate wiedergegeben. Da das Gewicht der Versuchstiere etwas verschieden war, habe ich die durchschnittliche Zucker-

[1]) Eine weitere Untersuchung des Verhaltens des Blutzuckers während der Phlorizin-Adrenalinvergiftung mußte ich aufschieben, da ich nur die Sommermonate zur Verfügung hatte und diese wegen der Glykogenarmut der Kaninchen zu diesen Versuchen unbrauchbar sind.

Tabelle V.

Zuckerausscheidung im Harn, in Gramm pro Stunde angegeben.

Datum	Nr.	Gewicht	1. St.	2. St.		3. St.	4. St.	5. St.	6. St.	7. St.	8. St.	9. St.	10.St.	11.St.	12.St.	13. bis 23. St.	24. bis 28. St.	29. bis 32. St.	33. bis 35. St.
28. IV.	26	2100[1])	0,20	0,52	Adrenalininjektion	0,30													
28. IV.	27	1900[1])	0,21	0,43		0,42	(0,40)	(2,11)		(1,48)		0,56	5,30				+	+	+
29. IV.	28	3500	0,76	0,92		1,49	1,92	4,50		1,20	2,30		4,32				1,04	?	?
18. VI.	37	2100	0,51			0,58	0,77	0,75	0,52	1,26			0,25		0,74		0,25	0,17	0,06
Durchschnitt[2]) pro St.			0,27	0,43		0,54	0,75	1,03	0,95	0,61	0,60	0,55	0,23	0,23	0,21	0,21	0,08	0,04	0,02

[1]) Weibchen. Der Harn exprimiert. [2]) Berechnet pro 2 kg Kaninchen.

Tabelle VI.

Diurese und Zuckerkonzentration im Harn pro Stunde.

Nr. d. Versuchs	1. St. ccm	1. St. %	2. St. ccm	2. St. %	3. St. ccm	3. St. %	4. St. ccm	4. St. %	5. St. ccm	5. St. %	6. St. ccm	6. St. %	7. St. ccm	7. St. %	8. St. ccm	8. St. %	9. St. ccm	9. St. %	10. St. ccm	10. St. %	11.St. ccm	11.St. %	12.St. ccm	12.St. %	13. bis 23. St. ccm	13. bis 23. St. %	24. bis 28. St. ccm	24. bis 28. St. %	29. bis 32. St. ccm	29. bis 32. St. %	33. bis 35. St. ccm	33. bis 35. St. %
26	4,5	4,5	9	5,8	6,4	4,6																										
27	5,2	4,1	7	6,2	13	3,2	>22	1,8	ca. 60 ccm	3,5%			20,8 ccm	7,0%			7,8	6,9	72,4 ccm	6,5%												
28	51	1,4	14	6,5	36,5	4,0	38	5,0	65 ccm	6,9%			11,5	10,4	18,5 ccm	12,5%			36,5 ccm	11,5%							13	8,0				
37	26,5 ccm	1,9%			54,5	1,1	22,2	3,5	16,5	4,0	14,3	3,6	16,8 ccm	7,5%					7,6 ccm	4,6%			27 ccm	2,8%			8,3	2,3	13,3	1,7	7	0,8
Diurese pro St. in ccm	?		10,4		27,6		27,4		26,5		25,4		9,2		8,4		7,5		4,1		4,1		3,5		3,5		2,7		3,3		2,3	
Zucker %	3,0		5,1		3,2		3,4		4,8		4,7		8,3		9,0		9,0		7,6		7,6		7,0		7,0		5,2		1,7		0,8	

ausscheidung für 2 kg Kaninchen berechnet. Diese Durchschnittswerte zeichnete ich graphisch auf in der Fig. 2, wo des Vergleiches wegen auch die Zuckerausscheidung nach Phlorizin allein und nach Adrenalin allein angegeben ist. Die Adrenalinwirkung sollte in die 2. bis 11. Stunde der kombinierten Versuche fallen.

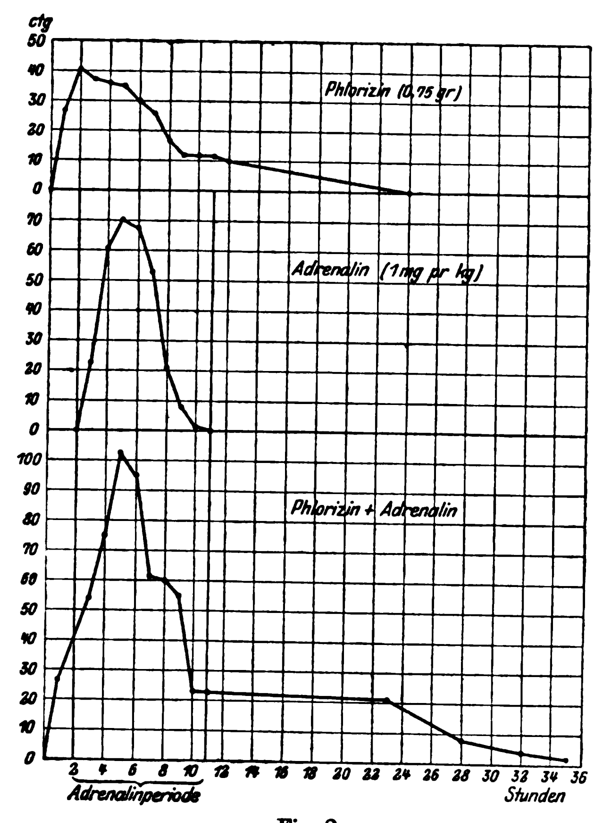


Fig. 2.

Diese Periode (die „Adrenalinperiode“) ist in der Figur durch die Linien der beiden gezogenen Ordinaten abgegrenzt.

Während der ersten beiden Stunden verhält sich die Glucosurie wie in den nicht kombinierten Phlorizinversuchen. Unmittelbar nach der Einspritzung des Adrenalins entsteht bei starker Diurese[1]) eine stürmische Zuckerausscheidung, die offen-

[1]) Die Diurese ist jedoch keine stärkere als in den reinen Adrenalinversuchen.

bar eine Summierung der Phlorizin- und der Adrenalinglucosurie ist.

Die beiden Glucosurien verlaufen bis zu einem gewissen Grade voneinander unabhängig und nebeneinander während der eigentlichen „Adrenalinperiode“ (2. bis 11. Stunde). Die ausgeschiedenen Zuckermengen sind während dieser Periode annähernd gleich der Summe der Zuckermengen, die das Phlorizin und das Adrenalin jedes für sich zur Ausscheidung gebracht haben würden. Während des ersten Teiles der „Adrenalinperiode“ erreicht die Zuckerausscheidung diese Summe jedoch nicht völlig. In diesem Zeitraum zeigen die Blutzuckerbestimmungen (siehe Tabelle IV), daß trotz der stürmischen Zuckerausscheidung dennoch eine deutliche Hyperglykämie besteht. Alles spricht mithin dafür, daß hier das Maximum des Zuckereliminationsvermögens erreicht ist.

Während des letzten Teiles der „Adrenalinperiode“ übersteigt dagegen die Zuckerausscheidung die genannte Summe. Wir wissen, daß die Adrenalinhyperglykämie zu diesem Zeitpunkte in raschem Abnehmen begriffen ist. Gelangt die Zuckerausscheidung unter diesen Verhältnissen über die Summe der Zuckerausscheidungen in den nicht kombinierten Versuchen hinaus, so läßt dies sich nicht wohl anders als dadurch erklären, daß das Eliminationsvermögen der Niere zugenommen hat.

Nach der „Adrenalinperiode“ dauert die Glucosurie an, erhält sich aber wesentlich stärker und dauert bedeutend länger als in den reinen Phlorizinversuchen. Während die Phlorizinglucosurie nur 24 und die Adrenalinglucosurie nur ca. 9 Stunden andauerte, hat die Glucosurie in den kombinierten Versuchen eine Dauer von mindestens zirka 36 Stunden. Die endgültige Erklärung dieses Umstandes muß dahingestellt bleiben; bedenkt man aber, daß die Blutzuckerkonzentration nach dem Aufhören der Adrenalinglucosurie normal oder subnormal ist (siehe Tab. I), so muß dieselbe jedenfalls auf einem gesteigerten Zuckereliminationsvermögen beruhen. Daß das Glykogen während der Adrenalinvergiftung und speziell nach dem Aufhören der Glucosurie völlig verschwindet, kann darauf hindeuten, daß die Zuckerproduktion in der Leber sich danach weiter fortsetzt. Diese Zuckerproduktion könnte dann

zu der relativ großen und anhaltenden Zuckerausscheidung in der 12. bis 36. Stunde der kombinierten Versuche beitragen.

Betrachtet man die gesamten, in den verschiedenen Versuchen ausgeschiedenen Zuckermengen, so kommt man zu ähnlichen Ergebnissen. Selbstverständlich ist es hier notwendig, die Versuche im April von denen im Juni zu sondern und die Ausscheidung pro 2 kg Kaninchen zu berechnen. Hierdurch gelangt man zu folgenden Resultaten:

Tabelle VII.

Monat	Nr. des Versuchs	Gesamte Zuckerausscheidung			
		nach Adrenalin g	nach Phlorizin g	Summa g	nach Phlorizin + Adrenalin g
April	29	ca. 6,4	ca. 3,1[1]	9,5	—
„	27	—	—	—	ca. 11,4[2]
„	28	—	—	—	„ 10,6[2]
Juni	33	ca. 1,7	ca. 3,1	4,8	—
„	34	„ 3,1	„ 3,1	6,2	—
„	39	„ 1,3	„ 3,1	4,4	—
„	37	—	—	—	ca. 5,6

Die Gesamtausscheidung von Zucker bei den kombinierten Versuchen im April betrug durchschnittlich 11 g, während die einfache Addition der in den nicht kombinierten Versuchen erhaltenen Werte 9,5 g ergibt. Bei den glykogenarmen Sommerkaninchen (Juni) war von vornherein einige Ungleichartigkeit zu erwarten, indem die Zuckerausscheidung je mit dem Glykogengehalt variiert. Durchschnittlich erhält man jedoch eine größere Zuckerausscheidung in dem kombinierten Versuche (5,6 g), als die Summierung der Zuckerausscheidungen in den nicht kombinierten Versuchen 5,1 g ergab. Die Gesamtausscheidung ist in den Phlorizin-Adrenalinversuchen um ca. 10 bis 15% größer als die Summe des nach dem Phlorizin und des nach dem Adrenalin ausgeschiedenen Zuckers, wenn jeder dieser Stoffe für sich injiziert wird.

Die Versuche zeigen also, 1. daß die Adrenalinglucosurie der Phlorizinglucosurie gleichsam superponiert

[1]) Durchschnitt einer Reihe von Versuchen.

[2]) Minimalwerte.

wird, 2. daß die gesamte Zuckerausscheidung größer wird als die durch einfache Addition entstandene Summe der Zuckerausscheidung in dem reinen Phlorizin- und in dem reinen Adrenalinversuche, und 3. daß die Glucosurie erheblich länger andauert als in den nicht kombinierten Versuchen.

Die Phlorizinglucosurie findet, wie früher gezeigt, ohne primäre Zuckerproduktion statt, die Zuckerausscheidung verläuft aber parallel zur Phlorizinausscheidung in ganz gesetzmäßiger Weise. Der Verlust an Blutzucker wird nach und nach mittels einer sekundären Zuckerproduktion in der Leber ersetzt. Diese sekundäre Zuckerproduktion in der Leber scheint also in der Niere ausgelöst zu werden.

Vermehrt man während der Phlorizinvergiftung die Zuckerproduktion in der Leber durch einen Aderlaß, und führt man somit dem Blute reichlichen Zucker zu, so entsteht doch keine Hyperglykämie. Die zugeführte Blutmenge hat sich jedoch nicht abgelagert, denn man findet zugleich, daß die gesetzmäßig verlaufende Glucosurie infolge des Aderlasses zunimmt. Die Zunahme entspricht wenigstens der durch den Aderlaß gesteigerten Blutzuckermenge. Hiernach wäre anzunehmen, daß die Nieren sofort den zugeführten Zucker aufsaugten. Dieses renale Zuckereliminationsvermögen konnte in den reinen Phlorizinversuchen nicht völlig ausgenutzt werden, vermutlich weil die Zuckerzufuhr zu gering war. Nach dem Aderlasse werden die Nieren reichlicher mit Zucker versorgt, das Maximum des Eliminationsvermögens wird aber dennoch nicht erreicht: aller zugeführte Zucker wird sofort ausgeschieden.

Bei anderen Eingriffen, die eine stärkere und anhaltendere Zuckerproduktion als der Aderlaß bewirken, sieht man ein ähnliches Verhalten. Bang wies nach, daß die Piqûrehyperglykämie während der Phlorizinvergiftung abnahm. — Nach Adrenalininjektion, die eine sehr stürmische und ziemlich anhaltende Zuckerproduktion bewirkt, können die Nieren phlorizinvergifteter Tiere anfangs zwar den Zucker nicht so schnell ausscheiden, wie er produziert wird; andererseits zeigt indes der

spätere Verlauf der Glucosurie in den Phlorizin-Adrenalinversuchen, daß man neben der vom Adrenalin herrührenden Zuckerausscheidung eine solche erhält, die bedeutend größer ist als die in den reinen Phlorizinversuchen. Dies deutet ebenfalls auf ein gesteigertes renales Eliminationsvermögen für Zucker während der Phlorizinvergiftung hin.

Die Versuche haben mithin in allem Wesentlichen die in der vorhergehenden Mitteilung aufgestellte Auffassung des Mechanismus der Phlorizinglucosurie gestützt.

Über die Wirkung der Mineralsalze auf den Eiweißumsatz in den Pflanzen.

Von

W. Zaleski und W. Israilsky.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium der Universit Charkow.)

(Eingegangen am 3. Januar 1910.)

Prianischnikow[1]) stellte zuerst einige Versuche an, die den Zweck hatten, den Einfluß des Gipses auf den Eiweißabbau keimender Samen von Vicia sativa zu verfolgen. Der Verfasser hat gezeigt, daß Gips die Energie des Eiweißabbaues steigert, ohne den chemischen Charakter dieses Prozesses zu ändern, da er nur das Wachstum der Keimpflanzen befördert, indem er diese in ein späteres Stadium der Keimung überführt. Es erwies sich weiter, daß Gips nicht nur den Eiweißabbau beschleunigt, sondern auch die Auswanderung stickstoffhaltiger Stoffe aus den Kotyledonen in die Achsenorgane befördert. So z. B.:

Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N.

	Destilliertes Wasser	0,1 % $CaSO_4$
Keimlinge (3 tägige)	38,08 %	34,31 %
Kotyledonen	20,23 „	10,32 „
Achsenorgane	17,85 „	23,99 „

Da der Verfasser keine absoluten Zahlen anführt, so kann man nur sagen, daß unter der Gipswirkung ein stärkerer Eiweißabbau in den Keimpflanzen von Vicia sativa stattfand.

Später hat Balicka-Iwanowska[2]) nachgewiesen, daß Mineralsalze und besonders Calcium die Eiweißregeneration be-

---

[1]) Prianischnikow, Über den Eiweißzerfall bei der Keimung, 1895, russische Arbeit.

[2]) Balicka-Iwanowska, Recherches sur la decomposition et la régeneration des corps albuminoides dans les plantes. Bull. de l'Acad. d. Sc. Cracovie 1903.

fördern, da diese beim Calciumausschluß aus der Nährlösung etwas vermindert wird. Es ist zu bemerken, daß für diese Schlußfolgerung der Verfasserin nur ein Versuch spricht, da in anderen Fällen auch die Nährlösungen ohne Kalium und Phosphor in derselben Weise wirkten.

Auf die oben angeführten Tatsachen beschränken sich, soweit wir wissen, unsere Kenntnisse über die Wirkung der Mineralsalze auf den Eiweißumsatz in den Pflanzen.

Vorliegende Mitteilung hat vorläufig den Zweck, den Einfluß der Mineralsalze nur auf die Eiweißumwandlung während der Keimung der Samen zu studieren.

Zu unseren Versuchen wurden die Samen von Lupinus angustifolius und Triticum sativum benutzt. Die Samen wurden eine gewisse Zeit im destillierten Wasser eingeweicht und dann zu Wasserkulturen genommen. Zu diesem Zweck wurden die Keimlinge auf Glaszylinder von 3 Liter Inhalt gesetzt, die mit Salzlösungen und in Parallelversuchen mit destilliertem Wasser gefüllt waren. In allen Versuchen bediente man sich destillierten Wassers, das aus gläsernen Gefäßen abdestilliert wurde. Die Lösungen wurden während des Versuches erneuert, und die Versuche wurden im Dunkeln angestellt.

Nach beendetem Versuche wurden die Keimlinge aus den Lösungen herausgenommen, mit Wasser sorgfältig gewaschen, mit Papier abgetrocknet und in Achsenorgane und Kotyledonen oder Endosperm zerlegt, die für sich allein bei 70° getrocknet wurden.

Das getrocknete Versuchsmaterial wurde fein pulverisiert und zur Bestimmung der Trockensubstanz und des Eiweißstickstoffs nach Stutzers Verfahren benutzt. Die Analysenzahlen wurden auf 100 Keimpflanzen berechnet. Die Zahlen für Trockensubstanz und Eiweißstickstoff der Keimlinge wurden als Summe aus den entsprechenden Zahlen für die Kotyledonen (oder Endosperm) und Achsenorgane erhalten.

1. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden im destillierten Wasser und Nährlösung (1 g $Ca(NO_3)_2$ 0,25 g KNO_3; 0,25 g $MgSO_4$, 0,25 g KH_2PO_4 in 1000 ccm H_2O) kultiviert. Versuchsdauer 24. II. bis 5. III.

	Trockensubstanz		Eiweiß-N	
	H_2O	Nährlösung	H_2O	Nährlösung
Achsenorgane	5,5689	6,0038	0,1475	0,1771
Kotyledonen	5,5877	4,8859	0,2229	0,1859
Keimlinge	11,1566	10,8897	0,3704	0,3630

2. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden im destillierten Wasser und 0,025 % iger Kaliumnitratlösung kultiviert. Versuchsdauer 6. IV. bis 17. IV. In diesem Versuche wurden die Samen in Kaliumnitrat eingeweicht.

	Trockensubstanz		Eiweiß-N	
	H_2O	KNO_3	H_2O	KNO_3
Achsenorgane	5,8413	5,8577	0,1483	0,1382
Kotyledonen	3,3378	3,8817	0,1081	0,1183
Keimlinge	9,1791	9,7394	0,2564	0,2565

3. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden in 0,025 % $MgSO_4$, 0,025 % KNO_3, 0,1 % $Ca(NO_3)_2$ und im destillierten Wasser kultiviert. Versuchsdauer 26. IV. bis 4. V.

	Trockensubstanz				Eiweiß-N			
	H_2O	$MgSO_4$	KNO_3	$Ca(NO_3)_2$	H_2O	$MgSO_4$	KNO_3	$Ca(NO_3)_2$
Achsenorgane	5,4543	5,1091	5,3708	5,7432	0,1216	0,1129	0,1264	0,1338
Kotyledonen	5,4528	5,8149	5,5047	5,3417	0,1706	0,2918	0,1695	0,1634
Keimlinge	10,9071	10,9240	10,8755	11,0849	0,2922	0,4047	0,2959	0,2972

4. Versuch.

Die Samen von Weizen wurden im destillierten Wasser, 0,025 % KNO_3, 0,1 % $Ca(NO_3)_2$, im destillierten Wasser mit Gipszusatz und in Nährlösung (Zusammensetzung wie im ersten Versuche) kultiviert. Versuchsdauer 8. V. bis 18. V.

	Trockensubstanz				
	H_2O	KNO_3	$CaSO_4$	$Ca(NO_3)_2$	Nährlösg.
Endosperme	1,4491	1,0285	1,4577	1,3997	0,9443
Achsenorgane	1,1640	1,5038	1,1913	1,1919	1,6325
Keimlinge	2,6131	2,5323	2,6490	2,5916	2,5768

	Eiweiß-N				
	H_2O	KNO_3	$CaSO_4$	$Ca(NO_3)_2$	Nährlösg.
Endosperme	0,0211	0,0164	0,0202	0,0202	0,0131
Achsenorgane	0,0355	0,0499	0,0365	0,0410	0,0548
Keimlinge	0,0566	0,0663	0,0567	0,0612	0,0679

5. Versuch.

Weizensamen (anderes Muster) wurden im destillierten Wasser und in 0,025°/$_0$ KNO_3 kultiviert.

Versuchsdauer in einem Falle 26. X. bis 3. XI., im anderen 26. X. bis 5. XI.

	Trockensubstanz		Eiweiß-N	
	H_2O	KNO_3	H_2O	KNO_3
Endosperme	0,8977	0,5900	0,0133	0,0084
Achsenorgane	0,7124	1,0125	0,0223	0,0337
Keimlinge	1,6101	1,6025	0,0356	0,0421

	Trockensubstanz		Eiweiß-N	
	H_2O	KNO_3	H_2O	KNO_3
Endosperme	0,5767	0,3065	0,0087	0,0056
Achsenorgane	0,9389	1,1894	0,0271	0,0356
Keimlinge	1,5156	1,4959	0,0358	0,0412

Wenden wir uns zuerst zu den Versuchen mit keimenden Samen von Lupinus angustifolius.

Die Nährlösung (1. Versuch) befördert den Eiweißabbau der Keimpflanzen und bedingt eine starke Ansammlung der Eiweißstoffe in den Achsenorganen mit der entsprechenden Verminderung in den Kotyledonen im Vergleich zu den Keimpflanzen, die in destilliertem Wasser wachsen.

Dieselben Veränderungen erfährt auch die Trockensubstanz der Keimlinge, und man kann annehmen, daß die Nährlösung die Auswanderung stickstoffhaltiger und stickstofffreier Stoffe befördert.

0,1°/$_0$ Calciumnitrat befördert auch die Ansammlung der Eiweißstoffe und der Trockensubstanz in Achsenorganen, ohne aber einen Einfluß auf den Eiweißabbau und den Trockensubstanzverlust der ganzen Keimlinge zu üben (3. Versuch). Dieses Salz verändert also nicht den Umsatz der organischen Stoffe in Keimpflanzen, sondern nur die Verteilung derselben in Achsenorganen und Kotyledonen. Es ist selbstverständlich, daß unsere Schlußfolgerungen sich nur auf die Konzentration des Calciumnitrats, in der sich dieses in der von uns benutzten Nährlösung befindet, bezieht, und außerdem sprechen wir in diesem Falle nur über den lange dauernden Einfluß des Salzes, da wir die reizende Wirkung desselben ausschließen.

Kaliumnitrat (3. Versuch) hat keinen Einfluß weder auf den Eiweißabbau und Trockensubstanzverlust der Keim-

pflanzen, noch auf die Auswanderung stickstoffhaltiger und stickstofffreier Stoffe in Achsenorgane, und nur im Versuche (Nr. 2), in dem die Samen in Kaliumnitratlösung eingeweicht wurden, bemerken wir den verzögernden Einfluß dieses Salzes auf die oben genannten Prozesse.

Im Gegensatz zu allen oben erwähnten Salzen der Nährlösung vermindert Magnesiumsulfat nicht nur den Eiweißabbau in Keimpflanzen, sondern auch die Ansammlung der Eiweißstoffe in Achsenorganen.

Diese Tatsachen stimmen überein mit den Versuchen über die Wirkung der Mineralsalze auf die Atmung und das Wachstum keimender Lupinensamen, die einer von uns vor kurzem publiziert hat.[1])

Andere Resultate über die Wirkung der Mineralsalze auf den Eiweißumsatz keimender Samen erhalten wir in Versuchen mit Weizensamen.

Im Gegensatz zu den Lupinen zeigen Weizenkeimlinge unter dem Einfluß von Nährlösung eine Verminderung der Energie des Eiweißabbaues im Vergleich zu den Kulturen derselben im Wasser. Eine solche Wirkung äußern auch Kalium- und Calciumnitrat, und diesen Einfluß müssen wir der Salpetersäure zuschreiben, da Calciumsulfat keinen Einfluß auf diesen Prozeß hat. Es ergibt sich also, daß die befördernde Wirkung des Gipses, die Prianischnikow[2]) in seinen Versuchen mit keimenden Samen von Vicia sativa beobachtete, keine allgemeine Bedeutung hat.

In der Kalium- und Calciumnitratlösung und besonders in der Nährlösung beobachteten wir ein größeres Wachstum der Keimpflanzen als im destillierten Wasser, und da die Keimlinge in diesen Lösungen eine geringere Menge der Trockensubstanz enthalten und in ihren Endospermen einen kleineren Gehalt an Eiweißstoffen zeigen, so ist es klar, daß sie sich in einem etwas späteren Stadium der Keimung befinden. Auf Grund dieser Tatsachen müßten die Keimpflanzen in den drei oben genannten Lösungen einen größeren Eiweißabbau zeigen, was aber nicht geschieht.

---

[1]) W. Zaleski und A. Reinhard, Die Wirkung der Mineralsalze auf die Atmung keimender Samen. Diese Zeitschr. 23, 1910.

[2]) Prianischnikow, l. c.

Wenn wir zur Erklärung dieser Erscheinung annehmen, daß Nitrate, indem sie in organische Stickstoffverbindungen übergehen, eine eiweißsparende Wirkung ausüben, so ist es unverständlich, warum wir einen solchen Einfluß derselben auf die Lupinenkeimpflanzen nicht beobachten.

Viel wahrscheinlicher ist die Annahme, die schon Godlewski[1]) auf Grund seiner Versuche mit Weizenkeimpflanzen ausgesprochen hatte. Der Verfasser hat gezeigt, daß der Eiweißabbau der Weizenkeimpflanzen in nitrathaltiger Lösung kleiner als in stickstofffreier ist. Godlewski vermutet, daß auf Kosten des Salpeters eine gewisse Menge von Eiweißstoffen gebildet wurde, wodurch die Abnahme teilweise kompensiert war. Godlewski konnte aber keine entscheidenden Argumente zugunsten dieser Schlußfolgerung anführen.

Einer von uns[2]) hat schon längst ausgesprochen, daß während der Keimung der Samen parallel mit dem Abbau der Eiweißstoffe in Kotyledonen ein Aufbau derselben in Achsenorganen aus stickstoffhaltigen Eiweißspaltungsprodukten, die in diese einwandern, vor sich geht. Solche Schlußfolgerungen haben Goldberg[3]) für Weizen und Rogosinski[4]) für Erbsen ausgesprochen.

Alle diese Schlußfolgerungen blieben unbewiesen, da die Abnahme der Eiweißstoffe der Kotyledonen oder Endospermen ganz der Zunahme derselben in den Achsenteilen der Keimpflanzen während der Keimung entsprechen, was man durch direkte Auswanderung der Eiweißstoffe erklären konnte.

Unsere vorliegenden Untersuchungen beweisen, daß in keimenden Weizensamen, nämlich in wachsenden Teilen derselben, der Eiweißaufbau, den Nitrate befördern, vor sich geht.

Unter der Wirkung von Calcium- und Kaliumnitrat und besonders der Nährlösung beobachteten wir eine ansehnliche An-

---

[1]) Godlewski, Zur Kenntnis der Eiweißbildung in den Pflanzen. Bull. de l'Acad. d. Sc. Cracovie 1903.

[2]) W. Zaleski, Zur Ätherwirkung auf die Stoffumwandlung in den Pflanzen. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 28, 1900.

[3]) Goldberg, Die Bildung der Eiweißstoffe während der Keimung von Weizen im Dunkeln (russische Arbeit). Warschau.

[4]) Rogosinski, Die Verteilung der stickstoffhaltigen Stoffe in keimenden Erbsen (russische Arbeit). Warschau.

sammlung der Eiweißstoffe in wachsenden Teilen der Keimpflanzen im Vergleich mit Weizenkeimlingen, die im destillierten Wasser wachsen. In diesem Falle können wir nicht über die befördernde Wirkung der Nitrate auf die Auswanderung der Eiweißstoffe aus Endospermen sprechen, da der Unterschied zwischen der Menge der Eiweißstoffe in wachsenden Teilen der Nitrat- und Wasserkeimpflanzen zweimal größer als dieser zwischen der Menge derselben in Endospermen ist.

Wenn wir annehmen, daß Nitrate den Eiweißabbau der wachsenden Teile der Keimpflanzen vermindern, so machen wir eine wenig wahrscheinliche Voraussetzung, da wir keine Gründe haben, einen stärkeren Abbau der Eiweißstoffe im Endosperm und einen schwächeren Zerfall derselben in wachsenden Teilen durch die Nitratwirkung zu vermuten.

Es bleibt also nur eine Annahme, daß Nitrate den Abbau der Eiweißstoffe im Endosperm und in höherem Grade den Aufbau derselben in wachsenden Teilen befördern, wodurch Nitratkeimlinge eine größere Menge der Eiweißstoffe als Keimpflanzen auf Wasser enthalten.

Wir können Godlewski zustimmen, daß Nitrate in besondere Verbindungen nicht übergehen, aus denen allein die Eiweißsynthese stattfinden kann. Es ist aber möglich, daß Nitrate, indem sie durch Reduktion Ammoniak geben, die Synthese der Aminosäuren und auf diese Weise den Eiweißaufbau beschleunigen.

Wir nehmen an, daß Nitrate eine stimulierende Wirkung auf den Eiweißumsatz der Weizenkeimlinge ausüben. Zugunsten der katalytischen Wirkung der Salpetersäure auf den Eiweißumsatz keimender Weizensamen spricht auch die Tatsache, daß sich mit dem Alter der Keimpflanzen der Unterschied zwischen Nitrat- und Wasserkeimlingen vermindert und wahrscheinlich verschwindet (5. Versuch).

Von diesem Gesichtspunkte aus ist es möglich, unsere Versuche mit Lupinenkeimpflanzen zu erklären. Auch in diesem Falle bemerken wir eine stimulierende Wirkung der Mineralsalze auf den Eiweißumsatz der Keimlinge, da die Nährlösung diesen Prozeß befördert. Da aber Nitrate keine Wirkung ausüben, so müssen wir den Einfluß der Nährlösung anderen Salzen

zuschreiben. Die verschiedene Wirkung der Nährlösung auf den Eiweißumsatz der Keimpflanzen von Lupinus und Weizen erklärt sich nur durch die verschiedene Intensität, mit der so entgegengesetzte Prozesse wie Abbau und Aufbau der Eiweißstoffe gleichzeitig vor sich gehen. Als Resultante dieser entgegengesetzten Prozesse beobachten wir unter der Wirkung der Nährlösung eine Verminderung der Eiweißstoffe bei Lupinen- und eine Vermehrung derselben bei Weizenkeimlingen im Vergleich zu Keimpflanzen, die im destillierten Wassser wachsen.

Beitrag zur Pankreasreaktion von Cammidge.

Von

Hans Ellenbeck.

(Aus der Heidelberger Universitäts-Kinderklinik.)

(*Eingegangen am 11. Januar 1910.*)

Unter den jungen Kindern jenseits des Säuglingsalters trifft man zuweilen das Krankheitsbild einer sehr schweren chronischen Ernährungsstörung, ausgezeichnet besonders durch eine sonst in diesem Umfange ungewöhnlich große und langdauernde Intoleranz zugleich gegen Fett und Kohlenhydrate in der Nahrung. Da das Pankreas für die Verdauung des Fettes und der Kohlenhydrate in der Nahrung eine sehr wichtige Rolle spielt, liegt in solchen bisher ätiologisch noch nicht geklärten Krankheitsbildern auch der Gedanke nahe, daß es sich um eine chronische Erkrankung der Pankreasdrüse handeln könne. Eine Pankreaserkrankung ist indes gewöhnlich recht schwer zu diagnostizieren. Eine Förderung soll nach einigen Autoren [Cammidge (1), Eloesser (2), Kehr (3), Dreesmann (4), Maas (5)] die Pankreasdiagnostik durch die Cammidge-Reaktion erhalten haben. Auf Veranlassung von Herrn Prof. Feer stellte ich zunächst bei einigen Fällen schwerster chronischer Ernährungsstörung die Cammidge-Reaktion an. Es waren Fälle, die oft bei geringster Menge von Kuhmilchfett in der Nahrung mit schlechten, fetthaltigen Stühlen reagierten, und die bei einer selbst über ein bescheidenes Maß hinausgehenden Gabe von Kohlenhydraten durch massige, lockere, stark sauer reagierende und riechende Stühle auch ihre Intoleranz gegen Kohlenhydrate zu erkennen gaben.

Ausgehend von der Untersuchung dieser Fälle, die vielleicht an einer Pankreaserkrankung leiden konnten, erstreckte ich meine

Untersuchung nach und nach auf eine Reihe anderer Kinder und Erwachsener in gesundem und krankem Zustand.

Zur Anwendung kam die zuletzt (1906) von Cammidge angegebene C.- oder kombinierte Methode, deren sich auch die anderen Untersucher bedienten, die sich in letzter Zeit mit der Cammidge-Reaktion beschäftigten. Das Verfahren war folgendes:

20 ccm eiweiß- und zuckerfreier Urin wurden nach Zusatz von 1,0 Salzsäure von 1,16 D leise 10 Minuten lang gekocht. Nach vollständigem Erkalten wurden zu dem eventuell auf 20 ccm aufgefüllten Urin 4 g Bleicarbonat langsam zugesetzt. Vom Niederschlage wurde abfiltriert. Zu dem klaren Filtrat wurden 4 g Bleiacetat zugesetzt, durchgeschüttelt und wiederum filtriert. In das klare Filtrat wurde bis zur vollständigen Fällung des Bleis Schwefelwasserstoff eingeleitet und wiederum vom Schwefelblei abfiltriert. Mit 10 ccm des Filtrats wurde eine Phenylhydrazinreaktion eingeleitet derart, daß es nach Zusatz von 8 g destilliertem Wasser + 1 g 50%ige Essigsäure + 2 g Natriumacetat + 0,8 g reines Phenylhydrazin 10 Minuten lang leise gekocht wurde. Nach dem Kochen wurde es heiß in ein Reagensglas filtriert und zur etwaigen Krystallbildung bis zum nächsten Tage stehen gelassen.

Einige Untersucher, die sich mit der Prüfung der Cammidge-Reaktion befaßten, sollen zu fehlerhaften Resultaten deswegen gekommen sein, weil sie sich nicht streng an die von Cammidge für seine Reaktion gegebenen Vorschriften hielten. Sie sollen entweder zu lang und zu stark gekocht haben, oder nicht sicher genug eine Täuschung mit etwa im Urin vorhandenem Zucker vermieden haben. In welchem Maße abweichende Resultate bei Versuchen mit der Cammidge-Reaktion durch eine fehlerhafte Technik erklärt werden können, lasse ich dahingestellt, sehe mich aber angesichts des häufigen positiven Ausfalls der Cammidge-Reaktion bei meinen Untersuchungen veranlaßt, noch kurz auf meine Untersuchungstechnik einzugehen.

Ich überzeugte mich durch die Kochprobe + Säurezusatz, daß der zu untersuchende Urin eiweißfrei war. Etwa vorhandenes Eiweiß wurde vor Anstellung der Reaktion entfernt. Durch die üblichen Reduktionsproben (Fehling, Trommer) wies ich vorher die Abwesenheit von Zucker nach. War die Probe auch nur verdächtig, d. h. wenn eine geringe Reduktion sofort oder nach einigem Stehen im untersuchten Urin eintrat, so wurde der zur Cammidge-Reaktion verwandte Urin vorher vergoren. Die auf 10 Minuten festgesetzte Zeit des Kochens kontrollierte ich mit einer Sanduhr, so daß ich die bestimmte Zeit leicht und sicher innehalten konnte. Statt des umgestülpten Trichters auf dem zu kochenden Urin, wie Cammidge angibt, wandte ich einen Rückflußkühler an, wodurch die verkochte Menge äußerst gering war. An Stelle des angegebenen Sandbades zum leisen Kochen legte ich auf das mit

Asbest versehene Drahtnetz noch eine Asbestplatte, weil mir das technisch besser paßte als das Sandbad, nachdem ich mich vorher bei positiv und negativ auf die Cammidge-Probe reagierenden Urinen überzeugt hatte, daß diese Abweichung indifferent war. Das leicht unrein werdende Phenylhydrazin wurde im Vakuum destilliert und gereinigt. Soweit es angängig war, verarbeitete ich mehr als 20 ccm Urin, indem ich die Zusätze selbstverständlich den Verhältnissen anpaßte, weil mir das technisch leichter erschien, worauf auch Schumm und Hegler (6) kürzlich hingewiesen haben.

Im ganzen wurden auf diese Weise 24 Urine verschiedener Herkunft untersucht, oft mehrere Male, um das einmal gefundene Resultat zu sichern bzw. um das von anderer Seite gefundene launische und wechselnde Auftreten der Reaktion zu prüfen. Der Urin stammte von 21 Kindern und von 3 Erwachsenen. Letztere schloß ich später in meine Untersuchungsreihe der Kontrolle halber ein, da mich der häufige positive Ausfall der Reaktion bei Kindern überraschte. Als ich dann bei gesunden Erwachsenen ebenfalls öfter einen positiven Ausfall erhielt, nahm ich zu meinen weiteren Untersuchungen gerne den Urin von Erwachsenen, weil dieser im Gegensatz zu dem oft äußerst spärlichen und nur mit Mühe zu erhaltenen Kinderurin in der gewünschten Menge leicht zu beschaffen war.

Bezüglich ihrer Herkunft lassen sich die untersuchten Urine folgendermaßen einteilen:

6 Fälle leichter chronischer Ernährungsstörung bzw. in der Rekonvaleszenz nach akuter Störung bei Säuglingen, von denen reagierten 5 –, 1 ?.

4 Fälle schwerster chronischer Ernährungsstörung bei jungen Kindern jenseits des Säuglingsalters, sie reagierten sämtlich stark +.

7 Fälle schwerster akuter Ernährungsstörung beim Säugling (Intoxik. ex alim.). Sämtlich +.

2 Fälle andersartiger Krankheit, davon 1 Kind mit Rachitis –, 1 schwerer Ikterus +.

2 gesunde Ammenkinder, die noch an der Brust lagen, bei denen die Reaktion bald schwach +, bald ?, bald – ausfiel.

3 gesunde Erwachsene. Der Urin des einen reagierte stets mehr oder weniger stark +, des anderen zuweilen +, meist –. Der Urin des dritten wurde nur einmal untersucht und reagierte schwach +.

Zusammengefaßt war das Resultat bei der Untersuchung, daß die in 24 Fällen angestellte Cammidge-Reaktion 16 mal positiv ausfiel, davon 5 mal positiv bei Gesunden. Mit diesem Resultat befinde ich mich in Übereinstimmung mit einigen

Autoren, z. B. Willcox (7), der ebenfalls in normalen Urinen öfter einen positiven Ausfall sah, im Widerspruch mit den Anhängern der Cammidge-Reaktion, die bei gesunden und andersartig als an einem Pankreasleiden erkrankten Personen einen positiven Ausschlag stets oder doch meist vermißten.

Die Reaktion wurde nach Angabe von Cammidge von mir nur dann positiv genannt, wenn ich unter dem Mikroskop deutliche Krystalle sah, die sich auf Zusatz von 33%iger Schwefelsäure löslich erwiesen. Die Krystallbildung ist oft so groß, daß nach 12stündigem Stehen im Reagensglas unter Durchsichtigwerden der vorher leicht gelblich getrübten Flüssigkeit ein mehr oder weniger großer, lockerer Bodensatz sich gebildet hat. So war es der Fall bei den schweren akuten und chronischen Ernährungsstörungen, jedoch auch zuweilen bei gesunden Erwachsenen. Oft indes ist der Niederschlag nur ganz gering, mit dem unbewaffneten Auge nicht sicher zu erkennen. In diesen Fällen habe ich den Urin stets länger zentrifugiert. Auch im Zentrifugat sieht man dann nur vereinzelte Krystalle unter dem Mikroskop. Da ich nicht überall Angaben darüber finde, ob im Zentrifugat nach Krystallen gesucht wurde, darf man vielleicht annehmen, daß einigen Prüfern der Cammidge-Methode spärlich ausgefallene Krystalle entgangen sind. In einer Anzahl von Fällen habe ich trotz langen Zentrifugierens und Durchsuchens des Zentrifugats unter dem Mikroskop Krystalle nicht finden können. So habe ich gewöhnlich die Krystalle vermißt im Urin von den nur leicht ernährungsgestörten Kindern, zeitweise bei den gesunden Ammenkindern und öfters bei einem gesunden Erwachsenen.

Die Gestalt der Krystalle wechselt. Meist sieht man schöne Garben und Büschel, oder Sterne und Rosetten. Die Nadeln sind bald länger, bald kürzer, in diesem Urin dünn, in jenem dicker. Die Gestalt scheint mir neben anderen Umständen, z. B. der Konzentration der Lösung, auch von Zufälligkeiten abzuhängen, so daß man aus der Form nicht ohne weiteres Schlüsse machen kann. So sah ich in einem Falle, dessen Urin wiederholt schön ausgebildete lösbare Krystalle gezeigt hatte, zahlreiche rosettenartige Gebilde mit leicht geschlängelten Nadeln, an deren krystallinischer Beschaffenheit man leicht zweifeln konnte. Nach dem Umkrystallisieren erhielt ich aber schöne

Krystalle in Garbenform, die sich auf 33%igen Schwefelsäurezusatz leicht lösten. Schmidt (8) spricht in seiner Arbeit „über Wert und Wesen der Cammidge Pankreas-Reaktion" von einem Krystallmycel, das unlöslich war. Derartigen Gebilden bin ich häufiger begegnet, und ich hatte wie Schmidt (8) den Eindruck, daß sie schwer löslich waren. Der Umstand aber, daß sie sich in einem Falle in gut ausgebildete Krystalle mit leichter Löslichkeit umkrystallisieren ließen, machte es mir wahrscheinlich, daß man auf die Form der Krystalle kein großes Gewicht legen darf. Stechapfelförmige, krystallinische Gebilde jedoch, denen man auch öfters begegnet, habe ich nicht als richtige Cammidge-Krystalle angesehen, da sie sich gegen Säurezusatz sehr widerstandsfähig erwiesen.

Cammidge schreibt nämlich vor, daß man die nach seiner Methode erhaltenen Krystalle auf ihre Löslichkeit in 33%iger Schwefelsäurelösung prüft, bevor man einen Schluß auf Pankreaserkrankung macht. Er gibt an, daß sich bei akuter Pankreatitis die Krystalle in $^1/_2$ bis $^3/_4$ Minute lösen, bei chronischer in $^3/_4$ bis $1^1/_2$ bis 2 Minuten und bei Pankreaskrebs in 3 bis 5 Minuten. Dagegen sollen die mit Zucker entstandenen Krystalle, die Phenylglucosazone, bei der genannten Verdünnung der Schwefelsäure selbst in 5 Minuten sich nicht auflösen. Ein Unterschied in der Löslichkeit der Krystalle habe auch ich wahrgenommen, ohne die Schlüsse aus der zur Lösung nötigen Zeit zu ziehen, wie Cammidge angibt. Mit Cammidges Angaben stimmt z. B. nicht überein, daß der Urin vom selben Individuum an einem Tage schnell lösbare Krystalle zeigt, an einem anderen dagegen schwerer lösbare.

Die in dem Urin der gesunden Ammenkinder gefundenen spärlichen Krystalle lösten sich stets schwer. Aber hier kommt vielleicht außer dem abweichenden Verhalten der Löslichkeit der Krystalle auch noch der Umstand in Betracht, daß sich in verhältnismäßig viel Flüssigkeit unter dem Deckglas nur vereinzelte Krystalle fanden. Der zugesetzte Säuretropfen erfuhr daher unter dem Deckglas eine stärkere Verdünnung, bevor er zum Krystall gelangte. Wollte man den Überschuß an Flüssigkeit unter dem Deckglas vor dem Säurezusatz gut absaugen, so saugt man in der Regel auch die spärlichen Krystalle mit fort. Anders liegen die Verhältnisse, wenn

reichlich Cammidge-Krystalle im Urin ausgefallen sind, und der unter das Deckglas gebrachte Tropfen durch die zahlreichen Krystalle verhältnismäßig wenig Flüssigkeit enthält. Setzt man hier Säure zu, so hat die in dem vorigen Falle zu befürchtende Verdünnung der zugesetzten Säure nicht in dem hohen Maße statt, und saugt man gar erst die Flüssigkeit unter dem Deckglas vor dem Säurezusatz ab, so bleiben stets hinreichend viele Krystalle zurück, die dann schnell in nächste Berührung mit dem zugesetzten Säuretropfen kommen. Es erscheint mir daher die Löslichkeit der Krystalle außer von ihrer chemischen Zusammensetzung und Gestalt, je nachdem sie dicker oder dünner sind, auch von der Menge der unter dem Deckglas bereits befindlichen Flüssigkeit, zu der der Säuretropfen zugesetzt wird, abzuhängen und diese Flüssigkeitsmenge unter dem Deckglas kann man in diesem Falle aus technischen Gründen nicht einheitlich machen. Ich versuchte z. B. das Absaugen zu umgehen und den Tropfen mit den Krystallen auf dem Objektträger lufttrocken werden zu lassen, mußte mich aber hernach davon überzeugen, daß die Krystalle dabei sich zersetzt hatten.

Meine Untersuchungen hinsichtlich der Löslichkeit der nach dem Cammidge-Verfahren gefundenen Krystalle hatten also das auch von anderer Seite bestätigte Resultat, daß die Krystalle nicht von gleicher Löslichkeit sind. Meist lösen sie sich in 33$^0/_0$iger Schwefelsäure innerhalb 1 bis 2 Minuten auf, zuweilen waren sie aber auch nach 5 Minuten noch unverändert. Sicherlich sah ich aber auch im Urin von Gesunden und solchen Kranken, bei denen eine Pankreaserkrankung nicht in Frage kam, die Lösung der Krystalle vor Ablauf von 2 Minuten geschehen.

Nun ist von Ham und Cleland (9) gegen die Cammidge-Reaktion der Vorwurf erhoben worden, daß sie wertlos sei, da es sich bei den Krystallen um eine Bleiverbindung mit dem Phenylhydrazin handele. Dieser Einwand ist bereits von Cammidge selbst widerlegt worden, indem er sich nach der Hydrolyse des Urins nicht der Bleisalze zur Neutralisation bediente und trotzdem seinen krystallinischen Körper mit Phenylhydrazin erhielt. Es erschien mir aber durch den verhältnismäßig häufigen positiven Ausfall der Probe bei meinen Unter-

suchungen wünschenswert, mich selbst zu vergewissern, daß die von mir bei der Reaktion angewandten Bleisalze nicht zur Täuschung Anlaß gaben. Meine dahingehenden Prüfungen hatten das Resultat, daß ich die Möglichkeit, in den nach dem Cammidge-Verfahren gefundenen Krystallen eine Bleiverbindung vor mir zu haben, mit Sicherheit ausschließen möchte. Denn einmal gelang es mir nicht, aus Wasser mit Bleicarbonat bzw. Bleiacetatzusatz nach Fällung des Bleies mit Schwefelwasserstoff ein Osazon zu erhalten. Auch Urin, der eine negative Cammidge-Reaktion ergeben hatte, zeigte nach Zusatz von etwas Bleicarbonat und Bleiacetat zum Filtrate nach Einleitung des Schwefelwasserstoffs bei der Weiterbehandlung mit Phenylhydrazin in wiederholten Versuchen nicht einen krystallinischen Körper. Wenn es mir durch die vorhergegangenen Versuche überhaupt zweifelhaft geworden war, ob Bleiverbindungen mit Phenylhydrazin in dem Cammidge-Verfahren einen krystallinischen Körper ergeben, der zur Täuschung führen könnte, so gab der weitere Versuch eine gewisse Sicherheit, daß das Blei an den Cammidge-Krystallen direkt nicht beteiligt war. Ich löste eine gewisse Menge der nach dem Cammidge-Verfahren aus einem Urin erhaltenen Krystalle wieder auf und wies die Abwesenheit von Blei in der Lösung nach. Das genügend lange Einleiten von Schwefelwasserstoff in die Lösung entfernt also, wie von mir angenommen war, das vorher zugesetzte Blei vollständig.

In den letzten Tagen der Untersuchungen, die ich aus äußeren Gründen abbrechen mußte, variierte ich das Cammidge-Verfahren zu bestimmten Zwecken 2mal derart, daß ich bei einem Urin, der eine positive Cammidge-Reaktion ergeben hatte, die Hydrolyse mit folgender Neutralisation mit Bleicarbonat wegließ, im übrigen aber genau nach der Vorschrift verfuhr. Der Hergang der Verarbeitung des Urins war also der:

Versetzen mit Bleiacetat zur Fällung der Glucuronsäure, Einleitung von Schwefelwasserstoff zur Beseitigung des Bleies, Anstellung der Phenylhydrazinprobe mit 10 ccm des Filtrates wie oben. Trotz der unterlassenen Hydrolyse bei dem allerdings nach der Cammidge-Methode + reagierenden Urin, der aber zuckerfrei war, wie Reduktionsprobe, Vergärung und die Osazonprobe ergeben hatte, gelang es auf diese abgekürzte Methode eine ziemlich große Anzahl deutlicher Krystalle durch die Behandlung mit Phenylhydrazin zu erhalten. Ihre Quantität

war jedoch geringer, als in der entsprechenden Menge Urin, wenn er vorher mit Salzsäure gekocht und mit Bleicarbonat neutralisiert war. Man mußte also den Schluß ziehen, daß der Urin einen Körper enthielt, der in unbehandeltem Zustande mit Phenylhydrazin ein Osazon nicht gab, einen krystallinischen Körper indes dann ausfallen ließ, wenn der Urin vorher in der Kälte mit Bleiacetat versetzt war, und das Blei durch Fällung mit Schwefelwasserstoff entfernt wurde. Und weiter: ein krystallinischer Körper war in noch größerer Menge nach der Phenylhydrazinprobe vorhanden, wenn derselbe Urin vorher der Hydrolyse mit folgender Neutralisation durch Bleicarbonat unterworfen war. Welche Rolle dem Bleiacetat hierbei zufällt, entzieht sich meiner Beurteilung. Man kann sich vielleicht vorstellen, daß durch die Behandlung des Urins mit Bleiacetat ein Körper ausgefällt würde, der in dem anderen Versuche mit dem unbehandelten Urin die Krystallbildung mit Phenylhydrazin gestört hatte. Leider fehlte mir die Zeit, diesen Körper in größerer Menge darzustellen, um ihn durch Schmelzpunktbestimmung mit dem durch die Cammidge-Methode gefundenen zu vergleichen. Mikroskopisch und hinsichtlich ihrer Lösbarkeit in verdünnter Schwefelsäure ließen sich die auf verschiedene Weise gewonnenen Krystalle nicht deutlich voneinander unterscheiden. Der Urin, der also die Eigenschaft gezeigt hatte, daß er in genuinem Zustand eine negative Osazonprobe gab, nach dem Versetzen mit Bleiacetat und Fällen des Bleies mit Schwefelwasserstoff einen krystallinischen Niederschlag mit der Phenylhydrazin-Reaktion ergeben hatte, in größerer Menge noch nach vorhergegangener Hydrolyse, stammte von einem gesunden Erwachsenen.

Man ist bei der Cammidge-Reaktion der Gefahr ausgesetzt, durch die Anwesenheit von Zucker im Urin getäuscht zu werden, da der Zucker durch die verschiedenen Manipulationen des Cammidge-Verfahrens nicht entfernt wird. Deshalb die Vorschrift von Cammidge, den Urin vorher auf Zucker zu untersuchen und bei seiner Gegenwart mit dem vergorenen Urin die Reaktion anzustellen.

Schumm und Hegler (6) hegen auf Grund ihrer Versuche die Ansicht, daß viele positive Cammidge-Proben nichts als positive Traubenzuckerproben sind. An die Gefahr, durch Zucker bei meinen Cammidge-Proben getäuscht werden zu können, habe ich stets gedacht, zumal im Hinblick auf die bei magendarmkranken Kindern bekanntlich oft geringe Toleranzbreite gegen Nahrungszucker und daraus resultierende Glucosurie. Der Urin wurde daher nicht nur mit den üblichen Reduktionsproben auf Zucker untersucht, sondern in verdächtigen Fällen wurde er stets der Vergärung unterworfen, bevor die Cammidge-Reaktion zu Ende geführt wurde.

Bei den zeitweise positiv auf die Cammidge-Probe reagierenden Urinen gesunder Ammenkinder habe ich außerdem zur Kontrolle eine Osazonprobe mit dem nativen Urin vorgenommen und hierbei einen positiven Ausfall vermißt. Da die Osazonprobe eine sehr empfindliche Zuckerprobe auch auf Milchzucker ist, der bei den Ammenkindern zunächst in Frage käme, müßte man einen positiven Ausfall der Phenylhydrazinprobe mit dem genuinen Urin erwarten, sobald er eine positive Cammidge-Probe ergibt und dieser Cammidge-Körper nichts als ein Osazon von gewöhnlichem Zucker wäre. Es ist zwar zu bedenken, daß die Menge der Cammidge-Krystalle im Urin gesunder Ammenkinder gewöhnlich sehr gering war, so daß man immerhin zugeben kann, etwa vorhanden gewesene spärliche Krystalle bei der Phenylhydrazinprobe mit dem nativen Urin wären übersehen worden.

Diese Überlegung und Einräumung einer etwaigen Täuschung fällt aber bei den stark + auf die Cammidge-Probe reagierenden Fällen von Intoxik. ex alim. weg. Hier ist die Ausbeute an Cammidge-Krystallen meist eine verhältnismäßig große, und man muß demnach annehmen, daß auch die Phenylhydrazinprobe mit dem genuinen Urin eine große Menge von Krystallen geben muß, wenn es sich bei den Cammidge-Krystallen um einen im nativen Urin bereits vorhandenen Zucker handele. Aber auch hier fand ich immer wieder, daß die einfache Osazonprobe mit dem genuinen Urin keine oder weniger Krystalle gab als die Cammidge-Probe, die ausnahmslos einen starken Niederschlag von Krystallen zeigte. Es war also hier zwar in einigen Fällen eine geringe Menge von Zucker im genuinen Urin, daneben aber ein Körper, der erst nach dem Cammidge-Verfahren behandelt, eine reichliche Krystallbildung erkennen ließ.

Auch bei dem Urin von Erwachsenen, die oft eine starke Cammidge-Reaktion gaben, habe ich durch die einfache Osazonprobe niemals einen deutlichen krystallinischen Niederschlag erhalten können. Sprach dieser Umstand, nämlich der negative Ausfall der Phenylhydrazinprobe mit dem nativen Urin, trotz + Cammidge-Reaktion schon gegen die Möglichkeit einer Täuschung durch Zucker, so wurde das Ergebnis durch einen anderen Versuch noch bekräftigt. Häufig habe ich den auf

Zucker verdächtigen Urin der Vergärung unterworfen, um etwa in Spuren vorhandenen Zucker bei der Weiterbehandlung nach dem Cammidge-Verfahren zu beseitigen. Immer wieder machte ich die Beobachtung, daß bei positiv reagierendem Urin es für den Ausfall der C.-Reaktion indifferent war, ob der Urin nach der Hydrolyse mit folgender Neutralisation einer 12stündigen Vergärung im Brutofen ausgesetzt wurde oder nicht. Außerdem war der bei dem C.-Verfahren aus dem Urin gesunder Erwachsener gewonnene krystallinische Körper in heißem Wasser löslich und unterscheidet sich auch dadurch von dem mit Traubenzucker gebildeten, in heißem Wasser unlöslichen Osazon. Und endlich spricht gegen eine etwaige Täuschung durch Traubenzucker-Osazon der in einigen Fällen bestimmte Schmelzpunkt (160 bis 184°), der wesentlich niedriger liegt als der des Glucosazons. Ich glaube daher mit Sicherheit annehmen zu können, daß in meinen Untersuchungen der C.-Körper nicht durch Traubenzucker vorgetäuscht wurde.

C. schreibt vor, nach der Hydrolyse und folgender Neutralisation mit Bleicarbonat in Zucker verdächtigen Urinen die Vergärung vorzunehmen. Ich dachte daran, daß die Hefewirkung in einem also vorbehandelten Urin, der auf Lackmus trotz im Überschuß zugesetzten Bleicarbonats immer noch sauer reagiert, durch die saure Reaktion oder die Anwesenheit von Blei ausbleiben könne. Zur Prüfung dieses Bedenkens stellte ich entsprechende Versuche mit Zuckerlösungen an. Diese wurden in derselben Weise wie im C.-Verfahren mit Salzsäure und Bleicarbonat vorbehandelt. Die Vergärung des Zuckers wurde durch die Vorbehandlung nicht verhindert.

Nahm ich z. B. Milchzuckerlösung, die für meine Zwecke mir deshalb geeigneter erschien als Traubenzuckerlösung, weil man bei jungen Kindern eher eine Ausscheidung von Milchzucker als von Traubenzucker erwarten darf, und stellte ein Gärungsröhrchen, beschickt mit Milchzuckerlösung und Hefe, in den Brutschrank, so war, wie zu erwarten stand, nach 12 Stunden eine deutliche Gärung nicht zu erkennen. Milchzucker vergärt bekanntlich nicht. Unterwarf ich dagegen dieselbe Zuckerlösung zuerst einer Hydrolyse mit folgender Neutralisation durch Bleicarbonat, wie es im C.-Verfahren geschieht, so trat in dem Filtrat im Gärungsröhrchen eine starke Ver-

gärung des invertierten Zuckers ein, obwohl sich noch Blei in der leicht auf Lackmus sauer reagierenden Lösung nachweisen ließ. Die Vergärung war also nicht aufgehalten worden. In einem dritten Versuche dagegen mit derselben Milchzuckerlösung, die nach dem C.-Verfahren bis zur Ausfällung des Bleies mit Schwefelwasserstoff weiterbehandelt war, wurde die Vergärung vermißt. Zucker ließ sich jedoch durch die Trommer-Probe noch deutlich nachweisen. Er war also nicht etwa durch die verschiedenen Fällungsmittel mitgerissen. Eine Erklärung für diese Wahrnehmung fehlt mir. Sie erscheint mir aber deshalb mitteilenswert, als sie zeigt, daß man bei Ausführung der C.-Reaktion die Vergärung des etwa zuckerhaltigen Urins nach der Hydrolyse und Neutralisation vornehmen soll, so wie C. vorschreibt, und nicht etwa später erst nach der Fällung des Bleies mit Schwefelwasserstoff.

Obwohl mir der diagnostische Wert der C.-Reaktion für Pankreaserkrankung schon im Anfange meiner Untersuchung sehr zweifelhaft erschien, als ich die Reaktion so oft und auch bei Gesunden positiv ausfallen sah und mich durch eine Reihe von Versuchen überzeugt hatte, daß ich nicht durch technische Fehler oder die Anwesenheit von Zucker im Urin getäuscht worden war, beschäftigte ich mich weiter mit ihr. Es interessierte mich, das Wesen des noch strittigen C.-Körpers kennen zu lernen, um dadurch vielleicht einen Hinweis auf die Bedingungen zu erhalten, unter denen er im Urin auftritt. Denn daß es sich nicht etwa um ein Zufallsprodukt handelte, schien mir daraus hervorzugehen, daß er bei bestimmten Krankheitsbildern stets in größerer Menge auftritt, während er bei anderen fast stets vermißt wird. Es galt zu diesem Zwecke zunächst eine größere Menge der Krystalle darzustellen, um Schmelzpunktbestimmungen vorzunehmen. Leider war ich dabei auf Urine von gesunden Erwachsenen in erster Linie angewiesen. Man bedarf nämlich ein größeres Ausgangsmaterial, denn die Ausbeute aus einem an C.-Krystallen selbst reichen Urin ist immer noch verhältnismäßig gering. So ergaben 140 ccm Urin nur 0,0168 g Krystalle, im Exsiccator getrocknet. Um eine gleich große Menge Urin von schwerkranken Säuglingen zu sammeln, bedarf es im günstigsten Falle mehrerer Tage. Dem Aufheben des Urins steht aber wieder das Bedenken entgegen, daß der fragliche Körper durch Zersetzung des Urins verschwindet. Zusätze zum Zwecke der Konservierung zu machen, schien mir nicht ratsam. Das Sammeln der Krystalle selbst wird dadurch erschwert, daß sie bei längerem Stehen in ihrer Mutterlösung ihre krystallinische Beschaffenheit verlieren und staubförmig werden, daher beim Auswaschen nicht auf dem Filter zurückbleiben. Als der beste Weg zum Sammeln erscheint mir der, den Urin, von dem durch eine Probe der Nachweis erbracht ist, daß er den C.-Körper enthält, frisch portionsweise der Hydrolyse zu unterwerfen und mit Bleicarbonat zu versetzen. In diesem teilweise behandelten Zustande erwies er sich haltbar und konnte zur späteren Weiterbehandlung aufbewahrt werden.

Im ganzen nahm ich 4 Schmelzpunktbestimmungen vor. Der Schmelzpunkt variierte zwischen 161 bis 184°. Zum Teil liegt das Schwanken wahrscheinlich an der Unreinheit des krystallinischen Körpers, denn bei aus dem Urin eines gesunden Erwachsenen gewonnenen Krystallen lag er das eine Mal bei 171 bis 174°, das andere Mal, nachdem der krystallinische Körper umkrystallisiert und so von einer anhängenden pechartigen Masse befreit war, bei 184°. Die gereinigten Krystalle aus dem Urin eines anderen gesunden Erwachsenen schmolzen bei 161 bis 164°, während eine Sammelmasse der Krystalle aus Urin von Kindern mit Intoxikation bei 170 bis 174° schmolz.

Caro und Wörner (10) untersachten die Urine von 2 Fällen mit ausgesprochener Pankreaserkrankung nach dem C.-Verfahren und fanden einen Schmelzpunkt der gewonnenen Krystalle zwischen 150 bis 160°. Auch sie fanden also keinen festen Schmelzpunkt. Vergleicht man die bekannten Schmelzpunkte von anderen Osazonen damit, so sieht man, daß die Phenylpentosazone mit einem Schmelzpunkt von 157 bis 166° ihnen am nächsten stehen, während das Glucosazon mit 205° Schmelzpunkt sich weit davon entfernt. Die Glucuronsäure gibt jedoch nach P. Mayer (12) ebenfalls ein bei 159 bis 164° schmelzendes Osazon.

Auf das Vorhandensein einer Pentose in nach Cammidge positiv reagierenden Urinen wies auch der mehrere Male gelungene Nachweis von Furfurol in den betreffenden Urinen hin. Indessen gelang der Nachweis von Furfurol nicht stets, wenngleich der betreffende Urin eine starke C.-Reaktion ergab. Ob die C.-Krystalle aus Urinen, die eine positive Furfurolprobe zeigten, einen anderen Schmelzpunkt hatten als solche, gewonnen aus Urinen, die auf Furfurol negativ reagierten, habe ich nicht untersucht, wäre aber denkbar.

Ähnlich wie mit dem Pentosennachweis verhielt es sich auch mit der Glucuronsäureprobe. Wiederholt zeichnete sich nach C. stark positiv reagierender Urin durch eine deutlich positive Tollenssche (11) Glucuronsäureprobe[1]) aus, ein ander-

[1]) Nach einer Arbeit von J. A. Mandel und C. Neuberg: „Naphtoresorcin als Reagens auf einige Aldehyd- und Ketosäuren" (17) ist die Tollensche Glucuronsäureprobe nicht eindeutig; insbesondere bei Säuglingsurinen muß man unter vielem anderen an Störungen durch Allantoin denken.

mal wieder nicht. Aus Mangel an Urin konnte nicht immer auf Pentosen und Glucuronsäure untersucht werden.

Es soll ja die Behandlung des Urins mit Bleiacetat im C.-Verfahren dazu dienen, die Glucuronsäure aus dem zu untersuchenden Urin zu fällen. Auf Grund meiner Untersuchung muß ich daran zweifeln, daß dieses immer völlig gelingt. Ich machte z. B. den Versuch, aus einem Urin, der eine positive Tollensprobe gab, durch Bleizucker und Bleiessig die Glucuronsäure zu entfernen. Auf diese Weise wollte ich die Möglichkeit, daß bei dem zu untersuchenden Urin die sicher vorhandene Glucuronsäure den C.-Körper lieferte oder wenigstens zum Teil liefere, ausschließen. Der Filterrückstand, in Salzsäure gelöst und von Bleichlorid abfiltriert, gab, wie zu erwarten stand, eine starke + Tollens-Probe, während die Orcin- und Phloroglucinprobe auf Pentose negativ waren. Jedoch auch das Filtrat (nach Fällung der Glucuronsäure mit Bleiessig und Bleizucker), das dann mit Schwefelwasserstoff weiter behandelt wurde, gab noch eine deutliche + Tollens-Probe, eine negative Orcinprobe. Die C.-Probe fiel mit dem Filtrat deutlich positiv aus. Hier scheint also die Glucuronsäure an dem positiven Ausfall der C.-Probe zum mindesten mit schuld zu sein, vielleicht in anderen Fällen, wo nicht ein so sorgfältiges Verfahren wie hier zur Fällung der Glucuronsäure (Bleiessig + Bleizucker) angewandt wurde, in noch erhöhtem Maße. Daß der C.-Körper der Vergärung entgeht, folgt bereits aus dem oben bei Gelegenheit der Besprechung einer möglichen Verwechslung mit Zucker Gesagtem. Ebenso ist oben schon darauf hingewiesen worden, daß die C.-Krystalle in heißem Wasser löslich sind. Durch den Polarisationsapparat und Spektralapparat habe ich näheren Aufschluß über ihn bei einigen wenigen Versuchen nicht erhalten können.

Auf Grund meiner Untersuchung neige ich bezüglich des Wesens der Krystalle zur Ansicht C.s, der nach Verlassen seiner ursprünglichen Glycerintheorie heute annimmt, daß es sich bei seinen Krystallen um eine Phenylhydrazinverbindung der Glucuronsäure und ein Osazon einer Pentose handele.

Caro und Wörner (10) halten es für mehr als wahrscheinlich, daß das Auftreten von gepaarter Glucuronsäure an dem positiven Ausfall der C.-Reaktion stark beteiligt sei und setzen noch hinzu, wenn sie

nicht völlig dadurch bedingt ist. Diese letzte Annahme scheint mir auf Grund meiner Untersuchung, die aus verschiedenen Gründen auch auf die Anwesenheit einer Pentose hinweist, zu eng.

Im Gegensatz zu diesen spricht sich Schmidt (8) auf Grund von Versuchen an Hunden, die er künstlich pankreaskrank machte, oder deren Leber und Milz er quetschte, dahin aus, daß es sich um Organpentosen handele. Die Annahme der Beteiligung von Pentosen an dem Zustandekommen der C.-Reaktion scheint mir, wie bereits gesagt, nahe zu liegen. Ob diese nun aus Organpentosen stammen oder mit der Nahrung und dem Abbau derselben zusammenhängen, ist eine weitere Frage, die nicht so leicht zu entscheiden ist. Einmal vorausgesetzt, daß es Pentosen im Urin sind, die die C.-Reaktion zustande kommen lassen, so ist ihre ausschließliche Herkunft aus dem Zerfall von Organproteiden unwahrscheinlich. Hiergegen spricht die im Verhältnis zu dem geringen Vorrat in den Organen zu reichliche und langdauernde Ausscheidung, vor allem spricht dagegen das dauernde Vorkommen im Urin gesunder Individuen. Ich habe im Harn eines gesunden Erwachsenen 3 Monate lang in gewissen Abständen immer wieder reichlich den C.-Körper nachgewiesen, ohne daß der Betreffende irgendwelche subjektive oder objektive Krankheitserscheinungen hatte. Das spricht doch wohl gegen Organzerfall und damit gegen eine alleinige Herkunft des C.-Körpers aus Organpentosen.

Willcox (7) geht in der Erklärung der Entstehung der C.-Krystalle viel weiter und führt sie auf eine auch im normalen Urin vorkommende Polysaccharose oder ein Glucoproteid zurück. Daß solche Körper an dem Zustandekommen der C.-Reaktion beteiligt sein können, darf man wohl annehmen. Jedenfalls ist es dann eine beachtenswerte Tatsache, daß sie in manchen Urinen und in besonderen Krankheitsformen in auffallend großer Menge vorkommen.

Die chemisch-physikalische Untersuchung des C.-Körpers hat mir sichere Ergebnisse über seine Natur nicht gegeben. Ich habe mir daher die weitere Frage vorgelegt, ob die Beobachtung der Klinik vielleicht Aufklärung bezüglich seines Auftretens geben kann. Auf den ersten Blick möchte man die Frage für unfruchtbar halten, da sich der C.-Körper bei Gesunden und Kranken fand. Ziehen wir aber einmal nur die Kranken in den Bereich der Betrachtung, so sieht man eine gewisse Gesetzmäßigkeit. Denn in allen Formen schwerster Ernährungsstörung akuter und chronischer Art, sieht man die Probe positiv ausfallen, während sie bei leichten Ernährungsstörungen und gesunden Kindern entweder negativ oder schwach positiv ausfällt. Diese Wahrnehmung kann uns auf eine Abhängigkeit von der Tätigkeit der Verdauungsorgane, dem inneren Stoffwechsel und der Nahrungsaufnahme hinweisen.

Betrachten wir zunächst die Fälle schwerster akuter Ernährungsstörung mit positiver C.-Reaktion, nämlich die Intoxikation ex alim. Diese Krankheit geht, wie der Name sagt, mit Vergiftungserscheinungen einher, ist mit einer Acidose, oft auch mit einer Glucosurie verbunden, als Zeichen einer schweren Stoffwechselstörung. Für diese Fälle ist es nicht schwer sich vorzustellen, daß im Körper Giftstoffe entstehen, die, gebunden an die als Schutzstoff im tierischen Körper auftretende Glucuronsäure, im Urin zur Ausscheidung gelangen. (Paul Mayer). Man muß auch daran denken, daß der in solchen Fällen vielfach gereichte Kampher einen Anteil an dem positiven Ausfall der C.-Reaktion hat, insofern er zur Bildung der sich mit ihm paarenden Glucuronsäure Anlaß gibt. Auszuschließen ist nicht, daß auch Organpentosen eine bescheidene Rolle spielen, da die Krankheit mit einem starken Zellzerfall im Körper einhergeht. Und wenn man an den schwer gestörten Abbau der Kohlenhydrate in der Nahrung denkt, der oft bei geringer Menge zu einer Glucosurie führt, so kann man die Vermutung hegen, daß der Abbau der Kohlenhydrate bis zu einer gewissen Menge noch bewerkstelligt wird, daß aber ein Teil der Kohlenhydrate ganz oder der vollständigen Verbrennung entgeht. Sie könnten dann entweder als Zucker (Glucosurie) oder als ein Zwischenprodukt des Kohlenhydratstoffwechsels im Urin zur Ausscheidung gelangen. Nach den Versuchen von Salkowski und Neuberg (16) über den Übergang von Glucuronsäure in Pentose könnte man daran denken, daß Pentosen, auf deren Beteiligung an der Bildung der C.-Krystalle manches hinweist, im Tierkörper auch aus Traubenzucker auf dem Wege über die Glucuronsäure entstehen. Diese möglichen Zwischenprodukte des Kohlenhydratstoffwechsels, seien es Pentosen, Glucuronsäure oder etwas anderes, würden dann, so kann man sich den Hergang ungefähr vorstellen, im Urin nicht die bekannten Zuckerproben zeigen, wohl aber, nach dem C.-Verfahren behandelt, mit Phenylhydrazin einen krystallinischen Körper geben. Zu einer derartigen Hypothese berechtigt der Ausspruch Abderhaldens (13): Wenn man bedenkt, daß die Niere die Funktion hat, jeden abnormen Bestandteil des Blutes und jeden normalen, sobald seine Menge die Norm übersteigt, auszuscheiden, dann ergibt es sich ganz von selbst, daß es unmöglich ist, bestimmte Angaben über die Zusammensetzung des Urins zu machen. Sie wird in erster Linie von der zugeführten Nahrung und auch von der Intensität des Zellstoffwechsels abhängen. Speziell über das Vorkommen von tierischem Gummi und der dextrinartigen Substanzen im Urin, die bei dem C.-Körper vielleicht mit in Frage kommen, schreibt er, daß sie in jedem normalen Harn vorkommen sollen, in größerer Menge namentlich im Harn von Diabeteskranken. Über ihre biologische Bedeutung liegt ihm die Annahme am nächsten, daß es Produkte sind, die dem vollständigen Abbau entgangen sind.

Mit Hilfe der Annahme, daß im Stoffwechsel Produkte dem vollständigen Abbau entgehen können und im Urin in irgendeiner Form erscheinen, wird auch das Vorkommen der positiven C.-Reaktion bei den schweren chronischen Ernährungsstörungen dem Verständnis näher ge-

rückt. Es sind Krankheitsbilder, deren hochgradige Verdauungsschwäche sich darin kund gibt, daß wochen- und monatelang, ja über Jahre hinaus, von dem knapp bemessenen Nahrungsfett oft der größte Teil als Neutralfett im Stuhl wieder abgegeben wird, daß bei einer für das Alter und den Zustand schon sehr geringen Kohlenhydratzufuhr häufig voluminöse, saure, lockere, braune Stühle auftreten. Die schwere Unernährbarkeit dieser Kinder hat Heubner (14) kürzlich auf eine angeborene, funktionelle Schwäche der Verdauungsorgane zurückgeführt. Es ist nicht von der Hand zu weisen, daß in diesen Fällen neben Glucuronsäure, als einer Folgeerscheinung des schwer gestörten Stoffwechsels, auch andere Körper als Produkte des mangelhaften Abbaus der Kohlenhydrate im Urin erscheinen und so den stets starken positiven Ausfall der C.-Reaktion veranlassen. Glucuronsäure wurde wiederholt von mir bei ihnen nachgewiesen. (Tollens Probe).

In gewisser Beziehung zu den Stoffwechselstörungen der beiden besprochenen Gruppen möchte ich auch den Fall von schwerem Icterus catarrh. stellen, der ebenfalls eine + C.-Reaktion hatte. Selbstverständlich betrachte ich die Krankheit nicht als eine eigentliche Stoffwechselkrankheit, sondern denke nur daran, daß durch die Erkrankung der Gallenwege und im Anschluß daran der Leberzellen die für den intermediären Stoffwechsel so wichtige und vielseitige Tätigkeit der Leber gestört ist. Wenn Hohlweg (15) bei seinen Untersuchungen zur funktionellen Leberdiagnostik die stärkste Lävulosurie neben der Lebercirrhose bei katarrhalischem Ikterus fand, so gibt das eine Berechtigung, an eine Störung im Kohlenhydratstoffwechsel durch Gallenstauung in der Leber zu denken.

Wir wenden uns jetzt den Fällen mit negativer bzw. wechselnder C.-Reaktion zu und finden unter ihnen die leichten chronischen Ernährungsstörungen bzw. die Rekonvaleszenten und die gesunden Individuen.

Ich vermute, daß hier der Ausfall der C.-Reaktion mit der Art und Menge der Ernährung zusammenhängt. Zu der Vermutung veranlaßt mich die Beobachtung an Erwachsenen, daß der Morgenurin (nicht Nachturin) gewöhnlich frei war bzw. weniger krystallinischen Ausfall gab, als der Urin nach einer reichlichen Mittagsmahlzeit. Auch Kehr rät, nicht den Morgenurin für die C.-Reaktion zu nehmen, sondern den Mittagsurin, ohne hierfür einen anderen Grund anzugeben als den, daß man sonst leicht einen negativen Ausfall sehe in einem Urin, der sonst + reagiere. Wenn wir eine Abhängigkeit des Ausfalls der C.-Probe von der Art und Menge der Nahrung annehmen, so ist auch der wechselnde, launische Befund bei demselben gesunden Individuum erklärt. Es ist ferner erklärlich, daß der eine Autor bei Gesunden keine + Reaktion sah, wenn er

z. B. nur Morgenurin nahm, der andere dagegen doch, der Nachmittagsurin verwandte. Wir müssen uns den Vorgang ungefähr so wie bei der alimentären Glucosurie vorstellen. Nach einer reichlichen Mahlzeit wird das Blut mit Abbauprodukten des Kohlenhydratstoffwechsels überschwemmt und ein Teil dieser kommt dann, noch nicht bis zu den Endprodukten verbrannt, im Urin zur Ausscheidung. Ein solcher Urin würde dann eine positive Zuckerprobe vermissen lassen, dagegen eine positive C.-Reaktion ergeben können. Bei den stets knapp ernährten, leicht ernährungsgestörten Rekonvaleszenten kommt es wegen der ihrer Toleranzbreite eng angepaßten Nahrungszufuhr nicht leicht zu einer Überschwemmung des Stoffwechsels mit Abbauprodukten der Kohlenhydrate, so daß der negative Ausfall der Cammidge-Reaktion klinisch sich hier wohl erklären ließe. Es war mir leider aus äußeren Gründen nicht möglich, den Gesichtspunkt der Abhängigkeit der C.-Probe von der zugeführten Nahrung näher zu prüfen.

Wenn ich zum Schluß das Resultat meiner Untersuchung zusammenfasse, so muß ich aus den 24 Fällen, in denen ich die C.-Reaktion bei kranken und gesunden Kindern sowie gesunden Erwachsenen anstellte, folgern, daß der positive Ausfall der C.-Reaktion eine Pankreaserkrankung nicht anzeigt. Daß die Probe bei Pankreaskrankheiten, die mit einer schweren Störung des Stoffwechsels einher zu gehen pflegen, positiv ausfällt, erscheint mir erklärbar, da ich bei meinen Untersuchungen gesehen habe, daß sie allemal bei schweren Ernährungsstörungen einen positiven Ausfall gibt.

Der Umstand, daß sie bei Gesunden und Leichtkranken bald positiv, bald negativ gefunden wird, scheint mir zum Teil von der Nahrung abhängig zu sein.

Über das Wesen des C.-Körpers läßt sich bisher nichts Bestimmtes aussagen, wahrscheinlich ist er nicht einheitlich. Er ist nicht vergärbar, hat einen Schmelzpunkt zwischen 163 bis 184° und scheint in Beziehung zu Glucuronsäure und Pentosen zu stehen.

Einen diagnostischen Wert hat die umständliche Probe einstweilen nicht, sie führt uns vielleicht aber zu weiterer Erkenntnis von dem Vorkommen der Kohlenhydratverbindungen im Urin.

Literaturverzeichnis.

1. Cammidge, Lancet 1904. — British med. Journ. 1906.

2. Eloesser, Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. 18, 1907.

3. Kehr, Die Bedeutung der Cammidge-Probe in der Indicationsstellung bei den Gallensteinoperationen. Münch. med. Wochenschr. 1909, Nr. 21. — Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. 20.

4. Dreesmann, Diagnose und Behandlung der Pankreatitis. Med. Klinik 1908.

5. Maas, Über die Bedeutung der Cammidgeschen Pankreasreaktion. Med. Klinik 1009, Nr. 5.

6. Schumm und Hegler, Über die Brauchbarkeit der sog. Pankreasreaktion nach Cammidge. Münch. med. Wochenschr. 1909, Nr. 37, 40.

7. Willcox, Lancet 1904.

8. Schmidt, Über Wert und Wesen der Cammidgeschen Pankreasreaktion. Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. 20, Heft 3.

9. Ham und Cleland, Lancet 1904.

10. Caro und Wörner, Berl. klin. Wochenschr. 1909, Heft 8.

11. Tollens, Über den Glucuronsäurenachweis. Münch. med. Wochenschr. 1909, Nr. 13.

12. P. Mayer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 59, 1900.

13. Abderhalden, Lehrbuch der physiol. Chemie, S. 767 u. 56.

14. Heubner, Jahrb. f. Kinderheilk. 20, 1909.

15. Hohlweg, Zur funktionellen Leberdiagnostik. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1909, Nr. 51.

16. Salkowski u. Neuberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. 36, 261, 1902.

17. Mandel u. Neuberg, diese Zeitschr. 13. 148, 1908.

Zur Kenntnis des Ionengleichgewichts im Organismus.

III. Messungen der normalen Harnacidität.

Von

Lawrence J. Henderson.

(Aus dem Laboratory of Biological Chemistry der Harvard Medical School.)

(Eingegangen am 21. Dezember 1909.)

Die Untersuchungen von Rohrer[1]) und Höber[2]) mit Konzentrationsketten haben gezeigt, daß der Harn, und zwar normaler sowohl als pathologischer, im Gegensatz zum Blut in seiner Reaktion, d. h. in der Konzentration seiner Wasserstoffionen keine geringen Schwankungen zeigt. Leider stimmen diese Ergebnisse, die an Zahl verhältnismäßig gering sind, nicht mit den Beobachtungen von Dreser[3]) überein. Es bestehen vielmehr weit auseinandergehende Ansichten betreffs der wahrscheinlichen Größe dieser Mengen. Die jüngsten Untersuchungen von Spiro und vom Verfasser[4]) und die Arbeiten über das Säurealkaligleichgewicht im Organismus, die in den letzten Jahren[5]) vom hiesigen Laboratorium aus veröffentlicht worden sind, haben es inzwischen wünschenswert erscheinen lassen, ausführliche und zuverlässige Angaben über diesen Gegenstand zusammenzustellen, denn es hat sich gezeigt, daß die sehr genaue Regulation des Gleichgewichts zwischen Säuren und Basen im Organismus in letzter Instanz von der Variabilität dieses Gleich-

---

[1]) Pflügers Archiv 86, 586, 1901.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 525, 1903.

[3]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 177, 1905.

[4]) Diese Zeitschr. 5, 105, 1908.

[5]) Einen allgemeinen Überblick über diesen Gegenstand findet man in dem Artikel des Verfassers in den Ergebnissen der Physiologie 8, 254 bis 325, 1909.

gewichts im Harn abhängig ist, indem dieser Fall der Regulation des osmotischen Druckes genau analog ist. Vor allem liegt es klar zutage, daß die Fähigkeit der Niere, wenn diese tatsächlich vorhanden ist, bei der Acidosis eine viel stärker saure Flüssigkeit, als es normaler Harn ist, zu produzieren, von der größten Wichtigkeit sein muß. Die folgenden Versuche sind die ersten Ergebnisse einer Untersuchung über die mit Indicatoren bestimmte Acidität des Harns. Es ist in Übereinstimmung mit den Arbeiten von Salm[1]) gefunden worden, daß die Konzentration der Wasserstoffionen, die zwischen $0{,}4 \cdot 10^{-7}$ und ungefähr $2 \cdot 10^{-7}$ liegt, sich ganz genau mit Neutralrot bestimmen läßt, und daß für alle Grade von Acidität, die die angegebene Zahl übersteigen, mit Erfolg Paranitrophenol angewandt werden kann, wenigstens für die bis jetzt vorgefundenen Grade von Acidität. Mit diesen Indicatoren ist die Acidität von 50 normalen Harnproben annähernd bestimmt worden. Es zeigte sich, daß Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration von ungefähr $0{,}4 \cdot 10^{-7}$ bis ca. $40 \cdot 10^{-7}$ häufig vorkommen. Diese verschiedenen Konzentrationen entsprechen den Schwankungen, die das Verhältnis des Mononatriumphosphats zum Dinatriumphosphat, das zwischen 1:9 und 9:1[2]) variiert, aufweist. Dies ist natürlich kein Grund, anzunehmen, daß größere Variationen pathologischerweise, experimentell, oder auch als das Resultat von rein zufälligen Umständen nicht vorkommen könnten. Es erscheint jedoch einleuchtend, daß der normale Harn gewöhnlich nicht stärker alkalisch als das Blut und nicht ganz frei von sekundärem Natriumphosphat sein kann, daß ferner die Konzentration seiner Wasserstoffionen durchschnittlich ungefähr zehnmal größer als die des Blutes, aber außerordentlich variabel ist. Offenbar liegt in den hier erwähnten Variationen der Beweis einer verhältnismäßig großen Breite des Verhältnisses zwischen Säure und Base im Harn, eine bei weitem größere Schwankung, als sie im Blute oder wahrscheinlich in irgend einer sonstigen Körperflüssigkeit mit Ausnahme des Magensaftes zu finden ist. Da also diese Variationen größer sind als solche, die im Blut vorkommen können, müssen sie einen Weg darstellen, um solche Schwankungen im Blut aus-

---

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 57, 471, 1906.

[2]) Henderson, Ergebnisse der Physiol. 8, 269 bis 276, 1909.

zugleichen, und folglich das dort bestehende Säurebasengleichgewicht zu erhalten. Es sind im hiesigen Laboratorium Untersuchungen im Gange, um unter pathologischen und experimentellen Bedingungen die Konzentration der Wasserstoffionen im Harn zu bestimmen, und um vor allen Dingen die äußersten Grenzen der Variationen derselben in Verbindung mit den vorangegangenen Messungen der Ionisationskonstante der β-Oxybuttersäure[1]) festzustellen.

Experimenteller Teil.

Eine Reihe von Lösungen mit bekannter Wasserstoffionenkonzentration wurde auf die übliche Weise durch Mischen verschiedener Mengen einer schwachen Säure von bekannter Ionisationskonstante mit ihrem Natriumsalz hergestellt. Die nachstehende Tabelle zeigt die Zusammensetzung und annähernde Wasserstoffionenkonzentration dieser Lösungen.

Nr.	(NaH_2PO_4)	(Na_2HPO_4)	$(\overset{+}{H})$	Indicator
00	0,0010 n	0,0060 n	$4 \cdot 10^{-8}$ n	Neutralrot
0	0,0010 n	0,0023 n	$1 \cdot 10^{-7}$ n	Neutralrot
	(CH_3COOH)	(CH_3COONa)	$(\overset{+}{H})$	
1	0,0009 n	0,0920 n	$2 \cdot 10^{-7}$ n	p-Nitrophenol
2	0,0023 n	0,0920 n	$5 \cdot 10^{-7}$ n	p-Nitrophenol
3	0,0046 n	0,0920 n	$1 \cdot 10^{-6}$ n	p-Nitrophenol
4	0,0092 n	0,0920 n	$2 \cdot 10^{-6}$ n	p-Nitrophenol
5	0.0230 n	0,0920 n	$5 \cdot 10^{-6}$ n	p-Nitrophenol
6	0,0460 n	0,0920 n	$1 \cdot 10^{-5}$ n	p-Nitrophenol
7	0,0920 n	0,0920 n	$2 \cdot 10^{-5}$ n	p-Nitrophenol

Diese Lösungen, in Flaschen von 250 ccm enthalten, wurden mit dem erforderlichen Indicator behandelt; diejenigen mit einer Acidität unter $(\overset{+}{H}) = 2 \cdot 10^{-7}$ mit Neutralrot, die anderen mit Paranitrophenol, wobei jede Flasche eine bestimmte Menge des Indicators enthielt.[2]) Diese Lösungen dienten zur Bestimmung der Harnacidität, indem die Farben verglichen wurden. Bei

[1]) Henderson und Spiro, l. c.

[2]) In der Wahl der Konzentration des Indicators ist ein beträchtlicher Spielraum gegeben, vorausgesetzt, daß immer gleiche Konzentrationen angewandt werden. Bei diesen Untersuchungen war die Konzentration des Paranitrophenols 0,08 %, des Neutralrots 0,0005 %.

jeder Bestimmung wurden 10 ccm ganz frischen Harns von Medizinstudierenden in eine 250 ccm fassende Flasche gebracht, mit Wasser verdünnt und mit Paranitrophenol behandelt. Wenn die Farbe der Farbenreihe des Paranitrophenols in den Standardlösungen entsprach, wurde die Konzentration der Wasserstoffionen abgeschätzt, entweder durch Festsetzen der Standardfarbe, mit der die Farbe der Harnprobe übereinstimmte, oder wenn diese zwischen zwei der Standardlösungen lag, wurde aus den Unterschieden der Farbennuancen durch rohe Abschätzung die Konzentration der Wasserstoffionen bestimmt. Wenn die Acidität, wie sich bei Behandlung mit Paranitrophenol herausstellte, geringer war als die Konzentration der Wasserstoffionen von $2 \cdot 10^{-7}$, wurde eine andere Probe, diesmal mit Neutralrot hergestellt und die Farbe mit den Lösungen des Neutralrots verglichen. Auf diesem Wege wurden die folgenden Werte für die Konzentration der Wasserstoffionen von 50 normalen, mittags um 12 Uhr entnommenen Harnproben festgesetzt.

$(\overset{+}{H}) \cdot 10^{-7}$	$(\overset{+}{H}) \cdot 10^{-7}$	$(\overset{+}{H}) \cdot 10^{-7}$
2	2	2
3	10	7
2	2	3
2	2	4
2	3	2
30	3	20
4	2	10
2	7	2
10	15	2
20	0,3	2
20	0,6	2
2	0,6	20
3	0,6	20
3	2	10
5	2	10
30	2	10
20	2	

Maximum $(\overset{+}{H}) = 30 \cdot 10^{-7}$.

Minimum $(\overset{+}{H}) = 0{,}4 \cdot 10^{-7}$.

Durchschnitt $(\overset{+}{H}) = 7 \cdot 10^{-7}$.

Die vorstehenden Resultate geben nicht die genauen Werte der Harnacidität, da die vorgenommene Verdünnung, die not-

wendig ist, um die Farbe des Harns möglichst unwirksam zu machen, bevor man die Farben der Proben vergleicht, eine leichte Änderung im Gleichgewicht zur Folge hat. Diese Änderung ist jedoch keine zufällige, sondern läßt sich annähernd bestimmen, sowohl durch Ausrechnung als auch experimentell mit Lösungen von Phosphaten. In den obigen Versuchen betrug die infolge der Verdünnung eingetretene Verminderung der Konzentration der Wasserstoffionen durchschnittlich ungefähr ein Viertel. Dies ergibt in den obigen Fällen für die äußersten Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration die Zahlen $40 \cdot 10^{-7}$ und $0{,}4 \cdot 10^{-7}$; die durchschnittliche Zahl aller 50 Proben ist annähernd $10 \cdot 10^{-7}$ oder etwas geringer, während das geometrische Mittel nur ungefähr $5 \cdot 10^{-7}$ beträgt. Der Umstand, daß die Wirkung der Verdünnungen in den obigen Experimenten sich nicht genau bestimmen läßt, vergrößert die wahrscheinlichen Fehler, die den auf diese Weise ausgeführten Bestimmungen anhaften; sonst ist diese Methode wahrscheinlich nicht weniger zuverlässig als die Methode, die Konzentration der Wasserstoffionen durch die Konzentrationskette zu messen. Es ist jedoch augenscheinlich, daß genaue Messungen, die so stark und aus so vielen verschiedenen Gründen variieren wie die Konzentration der Wasserstoffionen des Harns, gegenwärtig nicht erforderlich sind. Diese Methode ist jedoch sehr verbesserungsfähig, und um die im Harn vorkommenden Reaktionsgrenzen zu messen, wird eine solche Vervollkommnung unternommen werden.

Einige Versuche über die Geschwindigkeit der Inaktivierung (Denaturierung) der präcipitablen Substanz durch Alkalien.

Von

W. A. Schmidt.

(Aus der chemischen und gerichtschemischen Abteilung der Government School of Medicine, Cairo, Ägypten.)

(Eingegangen am 29. Dezember 1909.)

Untersuchungen über die *präcipitogene* Eigenschaft[1]) von durch Alkali völlig inaktiviertem Blutserum veranlaßten mich, einige Versuche darüber anzustellen, wie schnell die verschiedenen Alkalien Blutserum zu inaktivieren, d. h. die biologische Reaktionsfähigkeit zu zerstören vermögen. Systematische Untersuchungen in dieser Richtung sind meines Wissens bisher nicht veröffentlicht worden.

Dagegen finden wir über die durch Alkalihydroxyde bewirkte „*Denaturierung*" des Eiweißes, mit der die biologische *Inaktivierung* offenbar Hand in Hand geht, in Cohnheim, „Die Chemie der Eiweißkörper" (1904) S. 139, folgendes:

„Viel empfindlicher noch als gegen Säuren ist das native Eiweiß gegen Alkalien; die Alkalialbuminatbildung erfolgt daher im allgemeinen schneller, bei niederer Temperatur und geringerer Konzentration. Beim Erwärmen auf den Koagulationspunkt tritt sie augenblicklich ein. Aber auch bei Zimmertemperatur genügt nach Johannsson eine Natronlauge

---

[1]) Wie ich in meiner Abhandlung „Studien über Präcipitinreaktion und erhitzte Eiweißstoffe" (diese Zeitschr. 14, 1908, 346) bereits kurz mitteilte, gelingt es, durch Vorbehandlung von Kaninchen mit durch NaOH völlig inaktiviertem Serum ein Präcipitin zu erzeugen, das mit diesem (dem gewöhnlichen Präcipitin gegenüber reaktionslosen) Serum zu reagieren vermag. Vgl. auch Autoref. Biochem. Zentralbl. 8, Nr. 806. Ausführlichere Versuche hierüber sollen demnächst veröffentlicht werden.

von 0,2%, um in $2^1/_2$ Stunden Serumalbumin zum großen Teil in Alkalialbuminat überzuführen; auch kommt es hierbei schon zur Ammoniakentwicklung. Eine 2%ige Natronlauge aber zersetzt das Serumalbumin in weitem Maße. Eine $^1/_{16}$ norm. Kalilauge zerstört Eiereiweiß zum großen Teil. Nach Zoth und Dieudonné genügt beim Serum ein Erwärmen von einigen Stunden auf 40° bei sehr schwach alkalischer Reaktion, um eine Bildung von Alkalialbuminat herbeizuführen. Sonst liegen keine speziell hierauf gerichteten Untersuchungen vor; aber die Angaben Bernerts über die Oxydation des Eiweiß mit Permanganat und Kalilauge, sowie die Untersuchungen Hammerstens über die sauren Eiweiße Mucin, Globulin, Fibrinogen, Casein, die er in der Regel in verdünnten Alkalien, kohlensauren Alkalien oder Ammoniak auflöste, enthalten eine Fülle von Beobachtungen, wie rasch bei alkalischer Reaktion die Denaturierung des Eiweiß erfolgt."

Wie aus folgenden Versuchen ersichtlich, läßt sich das Fortschreiten der Denaturierung gerade mittels der Präcipitinversuche vorzüglich verfolgen, und es ist interessant, die Ergebnisse mit den eben angeführten chemischen Befunden zu vergleichen. Die Präcipitinversuche beweisen, daß in der Tat schon verhältnismäßig geringe Konzentrationen von NaOH ausreichen, um Blutserum bei Zimmertemperatur in wenigen Stunden derartig zu verändern, daß die biologische Reaktionsfähigkeit (gegenüber dem gewöhnlichen Präcipitin[1]) fast vollständig vernichtet wird.

Da es sich bei der Denaturierung (Inaktivierung) des Eiweißes durch Alkalien zweifellos um eine Funktion der OH-Ionen handelt, so war vorauszusehen, daß die Alkalihydroxyde bei weitem kräftiger denaturieren würden, als die an OH-Ionen bedeutend schwächeren Lösungen von Ammoniak, Natriumcarbonat, Borax, Dinatriumphosphat, Cyankalium usw. Meine unten angeführten Versuche, so weit sie gehen, zeigen dies denn auch in geradezu eklatanter Weise.

Zunächst seien die Versuche mit NaOH wiedergegeben; sie wurden folgendermaßen angestellt:

Das Serum (Pferdeserum) hatte im Gemisch mit der NaOH- (und NaCl-) Lösung bei allen Versuchen die Verdünnung von 1:10. Die Konzentration der Natronlauge (im Gemisch) variierte bei den verschiedenen Versuchen zwischen $^1/_2$ norm. bis $^1/_{100}$ norm. Ein Beispiel erläutert die Versuchsanordnung:

---

[1]) Siehe Anmerkung vorige Seite.

Es wurden miteinander vermischt:
10 ccm unverdünntes Pferdeserum,
40 „ 2%ige NaCl-Lösung,
50 „ einer z. B. 1/10 norm. NaOH-Lösung.

In diesem Falle handelte es sich somit um die Einwirkung einer 1/20 norm. (= 0,2%igen) Natronlauge auf das 1:10 verdünnte Serum. Die Versuche mit den anderen NaOH-Konzentrationen wurden in gleicher Weise angestellt.

Diese Gemische wurden dann bei Zimmertemperatur (25 bis 30° C) stehen gelassen. Zu verschiedenen Zeiträumen wurden 10 ccm dieser NaOH-haltigen Serumlösungen für die Untersuchung mit dem 9fachen Volum physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und diese (jetzt also 1:100 Serumverdünnung), nach der Neutralisation mit verdünnter Essigsäure bis zur schwach alkalischen Reaktion, mit Präcipitin geprüft. (Je 2 ccm der 1:100 Serumverdünnung wurden mit 10 Tropfen Präcipitinserum versetzt.)

Die Resultate sind in Tabelle I angeführt. Die Reaktionsfähigkeit der durch die Natronlauge veränderten Serumlösungen ist hier in Prozenten derjenigen Niederschlagsmenge ausgedrückt, die mit einer Vergleichslösung (1:100 Serum *ohne* Alkalibehandlung) erhalten wurde. (Die Niederschlagsmenge wurde erst am nächsten Tage, nachdem die Flocken sich gleichmäßig abgesetzt hatten, abgelesen.)

Tabelle I.

Die Geschwindigkeit der Inaktivierung des Blutserums durch NaOH bei 25 bis 30° C.

Titer d. NaOH im Gemisch mit dem Serum	Einwirkungsdauer des NaOH	Reaktionsfähigkeit des Serums (Niederschlagsmenge)
Vergleichslösung (1:100 Verd. v. Serum ohne NaOH)		100%
1/2 norm. NaOH (= 2%)	Unmittelbar nach der Mischung untersucht	ca. 40%
„	15 Min.	Spur
„	1 St.	0 (blieb vollkommen klar)
1/20 norm. NaOH (= 0,2%)	1 „	ca. 20%
„	2 „	„ 15%
„	7 „	„ 5%
„	24 „	Spur
1/40 norm. NaOH (= 0,1%)	1 „	ca. 50%
„	2 „	„ 35%
„	16 „	„ 15%
„	24 „	„ 5%
„	40 „	Spur
1/100 norm. NaOH (= 0,04%)	2 „	90—100%
„	24 „	ca. 80%
„	Nach 15 Min. langem Erhitzen bei 70°	„ 10%

Die für die Präcipitinversuche von dem mit NaOH behandelten Serum bereiteten Lösungen waren durchaus blank, und nach dem vollständigen Niedersinken des Reaktionsproduktes war auch die obenstehende Flüssigkeit vollkommen klar. Dies war bei allen Lösungen der Fall, auch bei denen, die infolge der stärkeren Denaturierung des Serums durch das NaOH nur noch Spuren von Niederschlag gaben. Diese Lösungen verhielten sich somit anscheinend genau so wie sehr verdünnte Lösungen von nur genuinem Serum; mit anderen Worten, der Hauptbestandteil, das entstandene reaktionsunfähige Eiweiß (Alkalialbuminat) schien die Reaktion des noch in geringer Menge übrig gebliebenen fällbaren Eiweißes nicht zu beeinträchtigen. (Vgl. hiermit die Resultate mit dem mit Na_2CO_3 bei 70° inaktivierten Serum. Anmerkung S. 50.)

Aus den Resultaten der Tabelle I ist ersichtlich, daß die Inaktivierung des Präciptinogens durch NaOH schon bei gewöhnlicher Temperatur überraschend schnell von statten geht. Eine $^1/_2$ norm. (2%ige) Natronlauge zerstört die Reaktionsfähigkeit des Serums fast momentan, und eine $^1/_{40}$ norm. (0,1%ige) NaOH-Lösung ist noch imstande, die Reaktionsfähigkeit innerhalb 1 Stunde um ca. 50% zu vermindern und in 7 Stunden fast vollständig zu vernichten. $^1/_{100}$ norm. NaOH (0,04%) ist dagegen (bei Zimmertemperatur) nur noch schwach wirksam; innerhalb 24 Stunden trat eine Verminderung der Reaktionsfähigkeit von nur ca. 20% ein; bei höherer Temperatur genügt indessen auch noch diese geringe NaOH-Konzentration, um Serum in kurzer Zeit vollständig zu inaktivieren, denn der Versuch zeigte, daß das $^1/_{100}$ norm. NaOH-Serum nach 15 Minuten langem Erwärmen bei 70° nur noch etwa $^1/_{10}$ der Reaktionsfähigkeit eines in gleicher Weise, aber *ohne* NaOH-Zusatz, erhitzten Serums besaß.

Es wurden nun einige Versuche über die Einwirkung von Natriumcarbonat und Ammoniak auf Serum vorgenommen, und zwar unter den gleichen Bedingungen wie beim NaOH.

50 ccm norm. Natriumcarbonat- bzw. Ammoniaklösung wurden mit 10 ccm Pferdeserum + 40 ccm NaCl-Lösung vermischt. Das zugesetzte Na_2CO_3 bzw. NH_4OH hatte somit im Gemisch den Titer $^1/_2$ norm. Nach 24stünd. Einwirkung bei 25 bis 30° wurde das Gemisch für die Präcipitinreaktion mit dem 9fachen Volum NaCl-Lösung verdünnt und diese jetzt 1:100 Serumlösung (nach der Neutralisation) mit Präcipitinserum versetzt.

Weder das Na_2CO_3 noch das Ammoniak übten eine nennenswerte Wirkung aus. Die Reaktionsfähigkeit des Serums war nach 24 stündiger Einwirkung dieser $^1/_2$ normalen Alkalilösungen um kaum mehr als $10^0/_0$ zurückgegangen. Schätzungsweise betrug der Niederschlag des Na_2CO_3-Serums $90^0/_0$, der des Ammoniak-Serums 85 bis $90^0/_0$ der Niederschlagsmenge des Kontrollversuchs. Verglichen mit der enormen Inaktivierungskraft des NaOH, können das Na_2CO_3 und NH_4OH (bei 25 bis 30°) somit als fast wirkungslos bezeichnet werden. Denn selbst bei Anwendung von $^1/_2$ normalen Lösungen beträgt die Verminderung der Reaktionsfähigkeit weniger als die unter sonst gleichen Umständen von einer $^1/_{100}$ normalen NaOH-Lösung bewirkten.

Schon diese wenigen Versuche lassen erkennen, daß — ebenso wie die Geschwindigkeit der Verseifung eines Esters, der Umwandlung von Hyoscyamin in Atropin durch Alkalien[1]) — so auch die Inaktivierungsgeschwindigkeit von Eiweiß durch Alkalien (außer von der Temperatur) lediglich von der OH-Ionenkonzentration abhängt, d. h. dieser proportional ist. Infolgedessen sind auch das nur äußerst wenig dissoziierte Ammoniak, sowie die auf Grund hydrolytischer Spaltung basisch reagierenden, aber an OH-Ionen doch verhältnismäßig armen Lösungen der Alkalisalze schwacher Säuren, z. B. Na_2CO_3, unvergleichlich weniger wirksam als das praktisch vollständig dissoziierte NaOH (und KOH).

Inaktivierungsversuche mit organischen Basen, z. B. mit dem sehr stark basischen Tetramethylammoniumhydroxyd, sowie mit denen mittleren Dissoziationsgrades, wie Diäthylamin oder Piperidin, deren Dissoziationskonstanten nach Bredigs[2]) Messungen etwa 60 mal größer sind als die des Ammoniaks, würden die Abhängigkeit der Seruminaktivierung von der OH-Ionenkonzentration sicherlich bestätigen und daher nicht uninteressant sein.

Bei einer Temperatur von 70° ist aber auch das Carbonat imstande, die Reaktionsfähigkeit des Serums stark zu vermindern. Einige diesbezügliche Versuche seien hier noch kurz mitgeteilt:

1:1 mit physiol. NaCl-Lösung verdünntes Pferdeserum wurde nach Zusatz von wechselnden Mengen von Na_2CO_3 $^1/_2$ Stunde lang bei 70° er-

[1]) Will und Bredig, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 2777.

[2]) Bredig, Zeitschr. f. physikal. Chem. 13, 289, 1894.

hitzt. Der Sodazusatz betrug 1%, 0,5%, 0,2% und 0,1% kryst. Na_2CO_3; das Serum wurde somit in $^1/_{14}$, $^1/_{28}$, $^1/_{70}$ und $^1/_{140}$ normaler Na_2CO_3-Lösung erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde das Serum mit dem 50fachen Volum NaCl-Lösung verdünnt und diese nunmehr 1:100 Lösungen mit Präcipitinserum untersucht. Als Kontrollversuch diente eine 1:100 Lösung von in gleicher Weise erhitztem Serum, dem — um identische Bedingungen zu haben — erst nach dem Erkalten 1% Na_2CO_3 zugefügt worden war.

Die Resultate waren folgende:

		Reaktionsfähigkeit (Niederschlagsmenge)
Serum $^1/_2$ St. bei 70°	*ohne* Soda erhitzt (Vergleichslösung):	(100%)
" " "	mit 1% Soda ($^1/_{14}$ norm.) erhitzt:	praktisch Null
" " "	" 0,5% " ($^1/_{28}$ ") "	10 bis 20%.
" " "	" 0,2% " ($^1/_{70}$ ") "	60 bis 80%
" " "	" 0,1% " ($^1/_{140}$ ") "	95 bis 100%

Während das Serum, wie eben gezeigt wurde, bei 25 bis 30° selbst in einer $^1/_2$ normalen (7%igen) Na_2CO_3-Lösung in 24 Stunden noch kaum beeinflußt wird, ist bei der Temperatur 70°, wie die eben angeführten Daten beweisen, bereits eine Na_2CO_3-Konzentration von $^1/_{70}$ bis $^1/_{28}$ normal (0,2 bis 0,5%ig) genügend, um schon innerhalb einer halben Stunde die Reaktionsfähigkeit des Serums empfindlich zu schädigen.[1])

---

[1]) Der Verlauf der Präcipitinreaktion des 70°-Na_2CO_3-Serums war in einer Hinsicht verschieden von dem des mit NaOH bei 25 bis 30° behandelten Serums. Während das in den Lösungen des letzteren gebildete Reaktionsprodukt — so weit diese Lösungen überhaupt noch mit dem Präcipitin reagierten — sich vollständig zu Boden senkte, wodurch die obenstehende Flüssigkeit nach einiger Zeit fast klar wurde, blieb bei dem 70°-Na_2CO_3-Serum die obenstehende Flüssigkeit mehr oder weniger stark getrübt. Diese unvollständige Abscheidung des Reaktionsproduktes deutet wohl darauf hin, daß durch das Zusammenwirken von Hitze und Carbonat das Serum qualitativ in etwas anderer Weise beeinflußt wird als bei der Einwirkung von NaOH bei 25 bis 30°. Ganz ähnlich wie die Lösungen des bei 70° mit Na_2CO_3 behandelten Serums verhalten sich übrigens Lösungen von Serum, das — namentlich in größerer Verdünnung — lediglich *höherer* Hitzegrade (80 bis 90°) ausgesetzt worden ist. Auch aus diesen Lösungen wird das Reaktionsprodukt recht mangelhaft abgeschieden; die obenstehende Flüssigkeit bleibt auch hier trübe. (Durch Vorbehandlung von Kaninchen mit $^1/_2$ St. lang bei 70° erhitztem Serum erhält man indessen ein Präcipitin, das mit dem stärker erhitzten Serum normal zu reagieren vermag. Vgl. meine Abhandlung „Präcipitinreaktion und erhitzte Eiweißstoffe", l. c. S. 309ff. und 321ff.).

Stellen wir letzteren Befund der bereits früher[1]) von mir mitgesteilten Tatsache gegenüber, nämlich daß Serum, wenn es unter sonst gleichen Umständen (also in 1:1 Verdünnung, $^1/_2$ St. bei 70°), aber *ohne* Na_2CO_3-Zusatz erhitzt wird, quantitativ noch fast ebenso gut (nur etwas langsamer) reagiert als unerhitztes Serum, so können wir aus dem Vergleich dieser Resultate die Schlußfolgerung ziehen, daß das *natürliche* Alkali des Serums, dessen Säuretiter doch immerhin $^1/_{20}$ bis $^1/_{25}$ normal entspricht, von nur geringem Einfluß ist, daß — mit anderen Worten — das Serumalkali erheblich weniger OH-Ionen abspaltet als eine Na_2CO_3-Lösung gleichen Säuretiters. Untersuchungen von Loewy und Zuntz[2]), Hamburger[3]) u. a. liefern hierfür ja auch die Erklärung. Nach diesen Forschern ist von der aus der *direkten* Titration des Serums sich ergebenden Gesamtmenge des Alkali der *größere* Teil an Eiweiß gebunden, daher nicht ionisiert (und folglich auch wirkungslos); nur etwa ein Drittel ist nach Hamburgers Bestimmungen als wirklich *freies* Alkali (Na_2CO_3, $NaHCO_3$, Na_2HPO_4 usw.) vorhanden.

Die vorstehenden Versuchsergebnisse dürften auch für die Praxis der Präcipitinmethode von einigem Interesse sein; nämlich in bezug auf die Wahl des Alkalis bei der unter Umständen notwendigen Behandlung der Eiweißstoffe mit Alkalien

Bekanntlich sind Eiweißlösungen, die, wie das Blutserum selbst, gegen Lackmus eine schwach alkalische Reaktion zeigen, für die Präcipitinreaktion am vorteilhaftesten. Saure Eiweißlösungen dürfen deswegen nicht verwandt werden, weil sie sich leicht von selbst trüben, bzw. mit dem zugefügten Präcipitinserum eine nichtspezifische Trübung geben; sie müssen daher vor dem Präcipitinzusatz bis zur schwach alkalischen Reaktion mit Alkali versetzt werden.

Da nun in der Praxis saure Eiweißlösungen keine Seltenheit sind, so muß häufig zur „Neutralisation" gegriffen werden. Ferner wird bei schwer löslich gewordenen Eiweißstoffen mitunter alkalisierte Kochsalzlösung als Lösungsmittel verwandt.

Diese Neutralistation, die eine Fehlerquelle beseitigen soll, kann nun bei unsachgemäßer Handhabung leicht andere Komplikationen verursachen; nämlich dann, wenn ein zu großer Überschuß von Alkali

---

[1]) Studien über Präcipitinreaktion und erhitzte Eiweißstoffe, l. c. S. 308.

[2]) Loewy und Zuntz, Pflügers Archiv 58, 511, 1894.

[3]) Hamburger, Osm. Druck u. Ionenlehre, 1, 308. Vgl. auch Höber, Pflügers Archiv 81, 522, 1900.

hinzugefügt wird. Zunächst ist zu bedenken, daß das Reaktionsprodukt in Alkalien löslich ist und daß deshalb die Reaktion in solchen Eiweißlösungen, die einen zu großen Überschuß von Alkali enthalten, weniger intensiv oder gar nicht eintritt.[1]) Falls es sich um schwache Alkalien (Na_2CO_3, NH_3) handelt, so ist dieser Fehler reparabel, d. h. nach der Neutralisaton des Alkaliüberschusses tritt die Reaktion in Erscheinung. Anders verhält es sich aber, wenn starkes Alkali (NaOH, KOH) benutzt worden ist; denn wie obige Versuche zeigen, ist das NaOH auch in verdünnter Lösung und bei Zimmertemperatur imstande, die biologische Reaktionsfähigkeit des Eiweißes empfindlich zu schädigen. Ein Überschuß von NaOH kann das Eiweiß also inzwischen bis zur Reaktionslosigkeit denaturiert haben. In solchem Falle würde die Neutralisation des Überschusses nichts mehr nützen.

Wegen dieser Gefahr der Eiweißdenaturierung sollte von einer Verwendung der notorisch starken Alkalien NaOH und KOH für die genannten Zwecke grundsätzlich abgesehen werden.[2]) Na_2CO_3 und NH_3 können dagegen, wie die Versuche beweisen, ohne Bedenken benutzt werden, denn selbst größere Mengen (5 bis 7 %) dieser Alkalien beeinträchtigen die Reaktionsfähigkeit des Eiweißes kaum merklich. Aber auch bei diesen schwachen Alkalien muß natürlich Rücksicht darauf genommen werden, daß ein Überschuß die Reaktionsfähigkeit des Eiweißes *verdeckt*, die Entstehung des Niederschlages verhindert.[3])

Beim Erhitzen der Eiweißlösungen (auf 70° und höher) sind indessen auch schon geringe Mengen von Na_2CO_3 (2 ‰) von Nachteil, und ein Zusatz von $^1/_2$ bis 1 % Na_2CO_3 inaktiviert das Eiweiß vollständig.

---

[1]) Tchistowitch, Uhlenhuth und Beumer. Siehe Uhlenhuth und Weidanz in „Praktische Anleitung", Jena 1909, S. 45 und 46. — Wie von mir vorgenommene Versuche zeigten, genügt schon der Zusatz einer $^1/_{20}$ normal entsprechenden Alkalimenge — ob Carbonat oder Hydroxyd, scheint hier gleich zu sein —, um die Fällung einer 1:100 Blutserumlösung durch das Präcipitin gänzlich zu verhindern.

[2]) Im allgemeinen werden in der Praxis ja auch die schwächeren Alkalien benutzt. Wie sehr diese Vorsichtsmaßregel aber Beachtung verdient, dürfte sich erst aus diesen Versuchen ergeben haben.

[3]) Um auch letztere Fehlerquelle auszuschließen, schlug ich bereits vor längerer Zeit (speziell für die Neutralisation saurer Fleischlösungen) Magnesiumoxyd vor, weil die Schwerlöslichkeit des MgO es von vornherein unmöglich macht, daß die Eiweißlösung zu alkalisch wird. (Ein *ad hoc* angestellter Versuch bewies, daß die Reaktionsfähigkeit von Serum, das 24 Stunden lang mit einem starken Überschuß von MgO geschüttelt worden war, nicht merklich gelitten hatte.)

Studien über Kataphorese von Fermenten und Kolloiden.

Von

H. Iscovesco.

(Aus dem Laboratorium für Physiologie der Sorbonne, Paris.)

(Eingegangen am 19. November 1909.)

Mit 13 Figuren im Text.

Im Jahre 1907 habe ich die Ergebnisse einer Reihe von Untersuchungen veröffentlicht, die ich über die elektrische Wanderung von Kolloiden und von Fermenten durch Kolloide hindurch angestellt hatte, und in der ich mich hauptsächlich mit der elektrischen Wanderung des Pepsins und Pankreatins beschäftigt hatte.

In einer am 4. Mai 1907[1]) veröffentlichten Arbeit führte ich aus, daß ich, um die Wanderung der Kolloide durch Kolloide zu beobachten, so wie ich es schon in meiner vorhergehenden Arbeit (Compt rend. Soc. Biol., 26. April 1907) angegeben hatte, U-Rohre von 6 mm Durchmesser benutze, in die ich, je nach dem Fall, Gelatine oder Ovalbumin tat, das durch Eintauchen des Rohres in kochendes Wasser koaguliert war oder auch Mischungen von Gelatine, Lecithin usw.

Über das Kolloid, das den horizontalen Teil des U-Rohres und nur einen kleinen Teil der vertikalen Schenkel einnahm, hatte ich reinen Magensaft eines Hundes mit isoliertem Magen (Pawlow) geschichtet. Alsdann tauchte ich in jede Flüssigkeitssäule Platinelektroden und ließ einen Strom von 60 Volt und etwa $^1/_5$ Milliampere hindurchgehen.

Unter diesen Bedingungen beobachtet man folgendes: Wenn man in das Albumin enthaltende U-Rohr in jeden Schenkel destilliertes Wasser tut, so hat man nach Ablauf von 24 Stunden eine Wanderung der Flüssigkeit nach dem negativen Pol. Das koagulierte Albumin nimmt

---

[1]) H. Iscovesco, Introduction à l'étude de la spécificité cellulaire Compt. rend. Soc. Biol. 1, 770, 1907.

also bei Vorhandensein von destilliertem Wasser eine negative, das Wasser eine positive Ladung an.

Wenn man auf jede Seite natürlichen oder künstlichen Magensaft oder auch mit HCl angesäuertes Wasser bringt, so wandert jetzt die Flüssigkeit in einem elektrischen Felde am positiven Pol. Das Albumin hat also eine positive und das Wasser eine negative Ladung angenommen. Mit dialysiertem Magensaft erhält man dieselben Ladungen und dieselben Veränderungen wie mit destilliertem Wasser.

Mit „gekochtem" Magensaft findet man wieder, wie mit destilliertem Wasser, eine deutliche Wanderung des Wassers nach dem negativen Pol, d. h., das Ovalbumin hat in diesem Falle eine negative Ladung angenommen.

Wenn man weiter in jeden Arm eine Lösung von $5\,^0/_0$igem NaCl tut, so bemerkt man, außer den Phänomenen der Elektrolyse, keine Wanderung der Flüssigkeit.

Neben diesen Wanderungsvorgängen beobachtet man, wenn man nach 1 bis $1^1/_2$ Stunden das mit Magensaft überschichtete Albumin prüft, hier eine Veränderung des Aussehens am positiven Pol. Es wird opalescent, gelblich, dann durchsichtig, gelatinös und nimmt nach 6 bis 10 Stunden ein vollständig opalescierendes Aussehen an, das die Albuminwürfel haben, die man im Brutschrank in Magensaft verdauen läßt, kurze Zeit ehe sie sich lösen.

In manchen Fällen konnte die Wirkung des Stromes stark genug werden, um das Verschwinden und Abschmelzen eines beträchtlichen Teiles (2 bis 3 ccm Länge) des Albumins an der positiven Seite hervorzurufen. In anderen Fällen wird das Stadium der Durchsichtigkeit nicht überschritten, und der Prozeß bleibt stehen. Jedenfalls erhält man — wenn der angewandte Strom nicht zu intensiv ist — im Laufe von 6 Stunden erhebliche Verdauung, die man bei Brutschrankdigestionen kaum in 48 Stunden erzielt.

Wenn man in ein auf gleiche Weise präpariertes U-Rohr auf die negative Seite Magensaft und auf die andere Seite destilliertes Wasser bringt und dann den Strom schließt, so bleibt die Verdauung vollständig aus.

Diese sehr oft wiederholten Untersuchungen ergeben immer dieselben Resultate. Die Kontrolluntersuchungen mit destilliertem Wasser, mit $3\,^0/_0$ HCl enthaltendem destilliertem Wasser, mit gekochtem Magensaft oder mit NaCl geben negative Resultate.

Der dialysierte Magensaft scheint ein positives Resultat zu geben, aber es ist nicht deutlich.

Wenn man den Teil des Ovalbumins, der das gelatinöse Aussehen am positiven Ende angenommen hat, vor der Auflösung entnimmt, so beobachtet man, daß er reichlich Proteosen enthält. Zusammenfassend kann man sagen:

1. Das koagulierte Ovalbumin nimmt bei Vorhandensein von destilliertem Wasser eine negative Ladung an.

2. Dasselbe Ovalbumin nimmt bei Vorhandensein von Magensaft oder angesäuertem Wasser positive Ladung an.

3. Wenn man einen elektrischen Strom von schwacher Intensität durch koaguliertes Ovalbumin schickt, das in Magensaft schwimmt, so bemerkt man auf der positiven Seite deutlich eine peptische Verdauung. Der elektrische Strom läßt das Pepsin in das Ovalbumin auf dieser Seite eindringen, und wahrscheinlich muß durch diesen Vorgang des Eindringens und der vollständigeren Imprägnation die beträchtliche proteolytische Wirksamkeit des Pepsins auf der positiven Seite erklärt werden, desselben Ferments, das, wie wir vorher gezeigt hatten, elektropositiv wird.

4. Die Erscheinungen des Eindringens von Fermenten in Kolloide unter dem Einflusse des elektrischen Stromes sind von großer Wichtigkeit für die Erklärung gewisser Phänomene, der Wanderung von Giften, Lysinen usw. in die Zellen. Durch die Potentialdifferenz dringt das Pepsin, das positiv ist, in das Albumin, weil dieses in unseren Fällen auch positive Ladung besaß. Überdies wird, wenn der Strom umgekehrt wird, nicht mehr weiter verdaut.

5. Die Richtung eines elektrischen Stromes kann also vollkommen die Einwirkung des Milieus auf die Zelle verändern. Eine Veränderung des Sinnes könnte unter gewissen Bedingungen genügen, für die lebenden Zellen eine Immunität gegen Gifte oder Lysine zu schaffen, die sich im äußeren Milieu befinden. Und die Zellen haben unter vielen anderen ein Mittel, das ihnen erlaubt, diese Veränderungen zu realisieren: die Veränderungen der Salzkonzentrationen.

In einer zweiten Abhandlung[1]) zeigte ich folgendes:

1. Der Pankreassaft gibt dem koaguliertem Ovalbumin positive Ladung und nimmt selbst negative Ladung an. Er wandert in der Tat in einem elektrischen Feld reichlich nach dem positiven Pol.

2. Derselbe, zuvor dialysierte Pankreassaft ($C = 47.\ 10^{-6}$) in einem U-Rohr über koaguliertes Ovalbumin und in ein elektrisches Feld gebracht, verändert seinen Charakter; er wird elektropositiv, und das Ovalbumin nimmt negative Ladung an.

---

[1]) H. Iscovesco, l. c. Compt. rend. Soc. Biol. 1, 861, 1907.

3. Wenn man über das Ovalbumin destilliertes Wasser schichtet, so bemerkt man durch die Veränderung des Wassers in diesem selben elektrischen Felde, daß das Ovalbumin negative Ladung und das destillierte Wasser positive angenommen hat. Aber nach der viel geringeren Wanderung des Wassers unter den anderen gleichen Bedingungen zu urteilen, scheint es, daß diese Ladung viel kleiner als bei den Versuchen 2 ist.

4. Wenn man über das koagulierte Ovalbumin gekochten Pankreassaft bringt, so sind die Resultate identisch und von gleicher Intensität mit denen, die man bei den Untersuchungen 2 erzielt.

5. Wenn man bei den Untersuchungen mit reinem Pankreassaft oder bei den anderen prüft, ob das Ovalbumin irgendeine Beeinflussung durch die kombinierte Wirkung des elektrischen Stromes und des Pankreassaftes erfährt, so bemerkt man, daß das Eiweiß an der positiven Seite keineswegs verändert ist, während eine sehr ausgesprochene Veränderung an der negativen Seite vorhanden ist. In der Tat wird an dieser Seite, und zwar auf eine Länge, die je nach der Dauer des durchgehenden Stromes wechselt, das Eiweiß aufgehellt, dann vollständig durchsichtig und löst sich schließlich auf.

Wenn man an einem zur vollständigen Lösung unzureichenden Stadium unterbricht und wenn man die durchsichtig gewordene Eiweißsäule an der negativen Seite entnimmt, so stellt man fest, daß es sich dort einzig um eine banale Konsequenz des Durchgangs des Stromes durch ein Milieu handelt, das Natriumsalze enthält. Tatsächlich ist das durchsichtige Albumin ganz einfach Alkalialbuminat, hervorgebracht durch das Natron, das sich an der negativen Seite durch Elektrolyse anhäuft.

Man beobachtet übrigens diese Bildung von Alkalialbuminat am negativen Pole sogar, wenn man nur destilliertes Wasser in das U-Rohr bringt, vorausgesetzt, daß man den elektrischen Strom lange genug durchgehen läßt.

Leonor Michaelis hat in diesem Jahre, ungefähr in derselben Weise wie ich vor zwei Jahren, Pepsin und Trypsin bearbeitet; aber augenscheinlich waren ihm meine beiden Arbeiten entgangen.

Bierry, V. Henry und Schaeffer[1]) hatten ferner ihrerseits die Resultate von Untersuchungen veröffentlicht, die sie

[1]) Bierry, V. Henry und Schaeffer, Etude du transport électrique des ferments solubles. Compt. rend. Soc. Biol. 2, 226, 1907.

über die Kataphorese verschiedener anderer Fermente als des Pepsins und Trypsins unternommen hatten.

Ich habe mich außerdem seit 1906[1]) mit der elektrischen Wanderung der Blutkolloide beschäftigt, und ich meinte zu jener Zeit, daß man zum Studium der elektrischen Ladung von Albuminen des Organismus sowohl ihre Fällbarkeit als ihren elektrischen Transport in einem an Elektrolyten möglichst armen Milieu, d. h. nach einer längeren Dialyse, prüfen müßte.

Seit jener Zeit habe ich meine Meinung geändert, und heute glaube ich, daß es in der Physiologie sehr wenig darauf ankommt, zu wissen, welches die elektrische Ladung eines Albumins oder eines ideal dialysierten und vollständig von Elektrolyten freien Fermentes ist; im Gegenteil: das, was wirklich wichtig ist, ist, wie sich das Albumin oder das Ferment in seiner natürlichen Umgebung, d. h. unter physiologischen Bedingungen, in Anwesenheit von Elektrolyten, verhält.

Wenn, wie dies höchst wahrscheinlich ist, die Ladung der Granula eines Kolloids in Wirklichkeit einzig von den adsorbierten Elektrolyten abhängt, und die chemische Natur des Granulum in neutralem Milieu nur den Charakter der Adsorption bestimmt, so ist es wichtig zu wissen, wie sich jedes Ferment in seiner natürlichen Umgebung und nicht in destilliertem Wasser verhält.

Ich hatte zwar, beiläufig und seit meinen ersten im Jahre 1907 veröffentlichten Untersuchungen, die ich weiter oben erwähnt habe, einige Untersuchungen mit nicht dialysiertem Pepsin und Pankreassaft gemacht, aber meine damalige Technik, nach der ich mich eines U-Rohres, das mit zwei Hähnen versehen war, bediente, war mangelhaft: sie ließ zahlreiche Einwendungen zu und rechnete nicht mit Störungen durch Elektrolyse, die selbst dann eintritt, wenn man lange dialysierte Substanzen prüft.

Was man tatsächlich mit dieser Technik auch versucht, man kann, selbst wenn man mit destilliertem Wasser arbeitet, nicht verhindern, daß nach einer, sogar um einen genügenden Fermenttransport zu haben, viel zu kurzen Zeit, infolge von

---

[1]) H. Iscovesco, Compt. rend. Soc. Biol. 1, 475 und 539; 2, 470, 533, 568 und 734, 1906.

Elektrolyse, Acidität einerseits und Alkalinität andererseits auftritt.

Allbekannt ist nun die außerordentliche Sensibilität der Fermente je nach ihrer Natur gegen H- oder OH-Ionen. Es besteht noch ein sehr wichtiger Faktor, der eine Quelle erheblicher Irrtümer ist: ich möchte ihn Pseudotransport oder Pseudo-Kataphorese der Kolloide nennen. Dieses Phänomen, dem ich mehrere Male begegnet bin und das der Ursprung schwerer Fehler sein kann, besteht in folgendem:

Wenn man gewisse gefärbte Kolloide, z. B. Jodstärke, transportiert, so bemerkt man eine vollkommene Entfärbung am negativen Pole, und man hat den Eindruck, daß es sich um einen sehr deutlichen Transport nach dem positiven Pole zu handelt. Wenn man indessen den Strom länger einwirken läßt, so bemerkt man, daß alles sich vollständig entfärbt hat: die Entfärbung nimmt allmählich bis zum positiven Pole zu.

Es genügt also die einfache Tatsache der fehlenden Enzymwirkung der an einem der Pole aufgefangenen Flüssigkeit und das Vorhandensein der Aktivität der am anderen Pole sich ansammelnden Lösung nicht, um festzustellen, daß ein Ferment wandert; man muß außerdem beweisen, daß die Gesamtmenge des Ferments sich nicht verändert hat und daß die Konzentration des Enzyms an einem der Pole erheblich zugenommen und proportional am anderen Pole abgenommen hat.

In Wirklichkeit ist die Zerstörung des beobachteten Ferments um so erheblicher, je näher es sich an den Platinelektroden befindet, je stärker der Strom ist und je länger der Versuch dauert.

Ich habe beobachten können, wie das übrigens viele Forscher getan haben, daß die Fermente außerordentlich empfindlich gegen den elektrischen Strom sind, sobald die Reaktion des Milieus wechselt. So wird das Pepsin in alkalischem Milieu viel schneller und gründlicher durch den Strom zerstört als in saurem, und das entgegengesetzte Phänomen beobachtet man beim Trypsin.

Die Wichtigkeit dieser Erscheinungen, die die Resultate entstellen können, verschwindet, wenn man das Ferment während des Transportes selbst zwingt, seine Wirkung zu offenbaren; in diesem Falle findet sozusagen ein Schnelligkeitskampf zwischen

der Geschwindigkeit der Zerstörung und der Wanderung statt; letztere kann durch die spezielle Enzymwirkung sich offenbaren, die in einer genügend kurzen Zeit auftritt, bevor der Strom noch die Zeit gehabt hatte, seine verderbliche Wirkung auszuüben. Wenn man also die Testsubstanz zwischen zwei das Ferment enthaltende Säulen einschieben kann, so wird man die Unterschiede beobachten können, die nach Ablauf einer gewissen Zeit die rechte Testsubstanz gegen die linke aufweisen wird, und den Transport selbst des Ferments beurteilen können.

Für Pepsin und Trypsin ist nichts leichter als dies mit der Technik zu bewerkstelligen, die ich weiter unten angebe; man muß eine Säule koagulierten Ovalbumins oder Gelatine einschieben, die die beiden Seiten des Transportapparates vollständig voneinander trennt. Ich verweise übrigens für die ganze von mir angewendete Technik auf das folgende Kapitel.

Wenn man überdies die Untersuchung in der Weise anstellt, daß die Platinelektroden durch eine genügend große Distanz von dem Teil getrennt sind, wo die diastatische Wirkung stattfindet, so spielen sich die Elektrolysenphänomene nur an den äußersten Punkten ab, an den Stellen, wo die Platinelektroden eintauchen, und man kann, wenn man dem Rohre entsprechende Längen gibt, erreichen, daß selbst nach einem Stromdurchgange von 24 Stunden die Reaktion an den Stellen, wo das Ferment sich in Kontakt mit der Testsubstanz befindet, nicht verändert ist, da die Diffusion langsam ist und dank der berechneten Länge der Rohre so langsam sein kann, wie man es nur wünscht.

Ehe ich die von mir befolgte Technik erklären werde, möchte ich mit ein paar Worten an einige der Untersuchungen erinnern, die seit den Resultaten, die ich im Jahre 1907 veröffentlicht habe, im selben Sinne ausgeführt worden sind; nur einige der bis heute veröffentlichten Arbeiten haben sich mit dem Transport der Fermente beschäftigt; eine viel größere Anzahl hat hauptsächlich die Wirkung des Stromes auf die enzymatischen Leistungen zum Gegenstande gehabt.

Ich habe weiter oben die Arbeit von Bierry, V. Henry und Schaeffer erwähnt.

Hierzu möchte ich noch bemerken, daß es keineswegs bewiesen ist, daß ein sehr lange dialysiertes Ferment nicht eine andere elektrische Ladung haben kann, als sie in ihrem normalen Milieu hat.

Nachdem ich im Jahre 1906 gezeigt habe, daß der lange genug dialysierte Magensaft elektropositiv war, und daß er in seinem natür-

lichen Milieu diese Ladung behielt, habe ich festgestellt, daß, wenn man mehrere Monate lang dialysiert, man elektronegative Proben erhält.

Friedrich Resenscheck[1]) hat die Wirkung des Stromes auf Hefenpreßsaft geprüft. Die Resultate, die dieser Autor erzielte, sind nicht überzeugend, da seine Methode aus verschiedenen Gründen anfechtbar war: er hat 110 Volt bei 32 Milliampere angewandt, Energien, die für diese Art von Untersuchungen einfach enorm sind, und bei denen die zerstörende Wirkung des Stromes eine derartig große ist, daß es unmöglich ist, die Resultate zu deuten.

Überdies tauchten die Platinelektroden in die Flüssigkeit selbst, die er zu untersuchen hatte; es ist dies ein Fehler, den ich mit um so mehr Unbefangenheit rügen kann, als ich ihn selbst in allen meinen vorhergehenden Untersuchungen begangen habe. Dies erklärt übrigens die Ausfällung der Albumine, die er beobachtet hat und die ich bei der gegenwärtig angewandten Methode fast gar nicht mehr erhalte.

Aus allen Untersuchungen dieses Autors würde dennoch hervorgehen, daß in den ersten 4 Stunden ein Transport des Hefenpreßsaftes nach dem negativen Pol zu und eine Abschwächung der Flüssigkeit an der positiven Seite erfolgt, aber die Verschiedenheiten der Zahlen, die er für die beiden Pole angibt, sind nicht groß genug, um Zweifel zu beheben, und bei seinen Untersuchungen I, III, IV, V, VII und VIII muß man sich sogar fragen, ob tatsächlich ein Transport stattgefunden hat.

Lebedew[2]) hat die Wirkung der Elektrizität auf Enzyme studiert. Er hat Wechselströme benutzt; er hat auch einige Untersuchungen mit Gleichstrom angestellt, aber er hat Energien benutzt, die für diese Untersuchungen geradezu furchtbar sind, und es kann nicht wundernehmen, daß er gefunden hat, daß das Ferment stark beschädigt war.

Ich gehe hinweg über die Forschungen von Charrin und d'Arsonval, die sich mit Toxinen beschäftigt haben, die außerhalb unseres Themas liegen.

Kudo[3]) hat in dieser Zeitschrift Untersuchungen über die Wirkung der Elektrizität auf Ptyalin, Pepsin und Trypsin veröffentlicht. Diese Untersuchungen bieten für uns deshalb Interesse, weil sie bewiesen haben, daß die elektrischen Ströme die Fermente veränderten, und daß folglich bei allen Transportuntersuchungen dies ein Element ist, mit dem man nicht genügend rechnet. Man muß indessen betonen, daß die von diesem Autor angewandte Technik die Fermente in direkten Kontakt mit den Platinelektroden brachte, und daß hierin schon eine beträchliche Veränderungsquelle für die Fermente lag. Ferner hat auch er Energien angewendet, die für diese Art der Untersuchungen noch zu stark sind. Es kann also nicht wundernehmen, daß er, sogar nach Ablauf einer Viertelstunde, Ptyalin und Pepsin stark verändert fand.

---

[1]) Diese Zeitschr. 9, 255, 1908.

[2]) Diese Zeitschr. 9, 392, 1908.

[3]) Diese Zeitschr. 16, 233, 1909.

Dieser Forscher hat übrigens auch festgestellt, daß alle Fermente sich in dieser Hinsicht nicht gleich verhalten und daß z. B. Ptyalin und Trypsin viel resistenter als Pepsin sind.

Leonor Michaelis hat sich gleichfalls kürzlich mit der elektrischen Wanderung von Fermenten beschäftigt; ich habe schon erwähnt, daß dieser Autor meine vor ihm gemachten Untersuchungen allem Anscheine nach nicht gekannt hat.

Michaelis hat mitgeteilt, daß Invertin elektronegativ ist, daß Trypsin gleichfalls elektronegativ ist (eine Tatsache, die ich zwei Jahre vor ihm veröffentlicht habe), und daß es elektropositiv wird, wenn es vorher leicht angesäuert wird. In bezug auf Pepsin hat er die Tatsache bestätigt, die ich vor zwei Jahren festgestellt und veröffentlicht hatte: nämlich, daß es elektropositiv ist. Aber Michaelis hat, glaube ich — wie ich übrigens selbst in meinen ersten Untersuchungen über den Transport der Fermente —, den Fehler begangen, die zerstörende Wirkung des Stromes auf das Ferment nicht genügend zu beachten, einer Wirkung, die stark genug sein kann, die erhaltenen Resultate vollständig zu entstellen.

Ehe ich zur Darstellung der Untersuchungen, die ich gemacht und über zwei Jahre fortgesetzt habe, übergehe, will ich die von mir angewandte Methode beschreiben.

II.

Methode.

Ich habe ein zylindrisches U-Rohr (Fig. 1) benutzt, das mit 2 Glashähnen versehen und so gebaut war, daß sein Durchmesser 1 cm breit und überall gleich war, selbst in den Hahnteilen (*A*). An die Enden des U-Rohres (*B*) schließen sich mittels Glasschliffen zwei andere Glasrohre, die zweimal gebogen und auch überall 1 cm weit sind.

Am oberen Teil, bei *C*, befindet sich eine Öffnung; sie ist mit einem Gummistöpsel versehen, der die Füllung des Apparates erleichtert. Am anderen Ende *D* taucht ein Platindraht ein; er kommt aus einem kleinen Glasrohre, das Quecksilber enthält und in das man nur das Ende des Kupferdrahtes zu tauchen braucht, der mit der Stromquelle verbunden ist, um den Strom durch den Apparat gehen zu lassen.

Das U-Rohr besitzt mit den beiden seitlichen Rohren im ganzen eine Länge von 1 m; aber man kann mit der größten

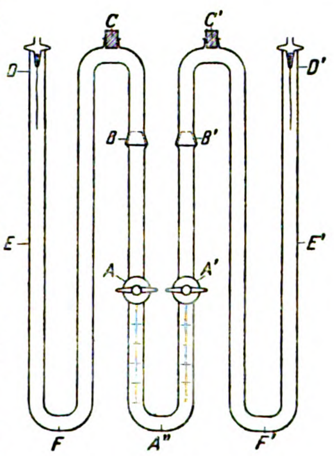


Fig. 1.

Leichtigkeit einen Apparat von 150 bis 200 cm Länge bauen, indem man dem U-Rohr *BCD* 3 oder 4 Biegungen gibt, derart, daß der Apparat nicht zu schwerfällig wird.

Die zu beobachtende Flüssigkeit wird nur in den Teil *AA'A* gebracht, oder bei gewissen Untersuchungen bis *B*; manchmal wird der ganze Apparat mit der zu untersuchenden Flüssigkeit gefüllt. Man verwendet als Proben die Portionen *AB*, oder irgend eine andere mehr oder weniger von den Elektroden entfernte Portion, eine Sache, die sehr leicht ist.

Ich füge hinzu, daß die Transportrohre an den Extremitäten *DD'* ein kleines seitliches Loch haben, das den durch die Elektrolyse gebildeten Gasen gestattet, zu entweichen.

Um die Wanderung der Kolloide durch Kolloide hindurch zu bewirken, oder um den Transport gewisser Fermente zu studieren, habe ich das Rohr *BAA'B'* genommen und bis *AA'*, d. h. bis zum Niveau der Hähne, Ovalbumin, eine Lösung von Gelatine oder Agar-Agar gegossen. Bei den Versuchen mit Gelatine oder mit Agar-Agar braucht man nur abkühlen zu lassen, indem man das Rohr gut vertikal hält, bis die Substanz gallertartig wird. Bei den Versuchen mit Ovalbumin taucht man das U-Rohr in ein Glas, das kochendes Wasser enthält, und wartet bis zu vollständiger Koagulation. Unter diesen Bedingungen stellt der Apparat der Figur 1 eine Säule von koaguliertem Albumin oder von Gelatine oder von festem Agar-Agar dar, die die rechte Seite des Apparates vollständig von der linken trennt.

Für diese Art der Untersuchungen wird oft der Apparat mit Hähnen überflüssig, und man kann das Rohr *BAA'B'* durch ein gewöhnliches Rohr ohne Hähne ersetzen.

Bevor ich diesen Apparat mit Albumin benutzte, habe ich immer geprüft, ob die Schließung des Rohres vollkommen war.

Zu diesem Zwecke gießt man etwas destilliertes Wasser in den einen der vertikalen Zweige, über das Niveau des koagulierten Albumins, und wartet $^1/_4$ Stunde; wenn nichts in die andere Seite fließt, so ist das Rohr zur Untersuchung geeignet.

In den Fällen, wo ich mich darauf beschränkt habe, die zerstörende Wirkung des Stromes auf Fermente zu studieren, ist es besser, nichts zwischen die rechte und linke Seite des Apparates einzufügen. Zunächst seien die Resultate der Untersuchungen über den Transport der Kolloide mitgeteilt.

III.

Pepsin.

Zu diesen Untersuchungen habe ich teils natürlichen Hundemagensaft gebraucht, teils künstlichen, aus Pepsin präparierten, der mir von der Fabrik Byla bereitwilligst zur Verfügung gestellt worden ist.

Ich habe schon die Resultate einiger früherer Untersuchungen vor 2 Jahren veröffentlicht, und ich habe im ersten Teil dieser Arbeit davon gesprochen. Früher habe ich auf jede Seite des Apparates der Figur 1 (der Apparat war mit einem Albumincoagulum gefüllt) über *A* Lösung von Pepsin getan und habe durch das Ganze einen elektrischen Strom geschickt.

Ich habe eine große Reihe von Untersuchungen angestellt und halte es für unnötig und überflüssig, alle Einzelheiten anzugeben; ich greife nur einige typische Versuche heraus; denn alle ähneln sich in bezug auf die Resultate.

Ich habe einen Strom durch den Apparat der Figur 1 geschickt; der ganze Apparat war mit der gleichen Lösung von salzsaurem Pepsin gefüllt, mit Ausnahme des Teiles *A'A*, der durch das geronnene Ovalbumin verstopft war.

Mein elektrisches Feld war 0,25 Voltzentimeter und die Intensität 0,019 Ampere.

Die Elektrolyse ist an den beiden Polen sehr stark: nach 4 Stunden bemerkt man, daß an der positiven Seite das Ovalbumin verschwunden und aufgelöst ist, abgerissen in einer Höhe von 5 cm, während es an der negativen Seite vollständig intakt ist. In diesem Augenblicke prüfe ich, ob die Flüssigkeit an der negativen Seite nicht alkalisch geworden, und ob dies nicht der Grund dafür ist, daß das Ovalbumin an dieser Seite intakt geblieben ist. Ich unterbreche den Strom, schließe die Hähne und bemerke, daß in der Tat an der Seite der negativen Elektrode, d. h. bei *D*, eine starke alkalische Reaktion vorhanden ist; aber bei *C* ist, nach Entfernen des Gummistöpsels auf derselben Seite, die Reaktion ebenso sauer wie an der positiven Seite, und bei *A* ist sie absolut identisch auf beiden Seiten, was ich durch eine Titration mit $^{n}/_{100}$-Sodalösung bei Gegenwart von Phenolphthalein feststelle. Die Diffusion von Alkali konnte also unter der Wirkung des angewandten Feldes noch nicht bis zum Punkte *C* gelangen, der sich 29 cm entfernt von der negativen Elektrode befindet.

Man bemerkt außerdem in den Zweigen *DEF* der positiven Seite, daß die ursprünglich vollkommen klare Pepsinlösung opalescent wird, während überall anders, und besonders an der negativen Seite, sie vollkommen klar geblieben ist.

Unter diesen Bedingungen erhält man nach einer gewissen Zeit beträchtliche Zerstörungen des Ovalbumins an der positiven Seite. Bei einem 10stündigen Stromdurchgange bei 0,62 Voltzentimeter Potentialgefälle und 0,0025 Ampere war das Ovalbumin an der positiven Seite in einem Umfange von $^{5}/_{6}$ des Rohrdurchmessers und auf eine Länge von 10 cm verschwunden. Die rechte positive Seite war von der linken negativen nur noch durch eine Scheidewand von intaktem Ovalbumin, das eine Höhe von 2 cm darstellte, getrennt.

Diese sehr oft wiederholten Untersuchungen ergeben immer dieselben Resultate.

Die Frage, die ich mir gestellt hatte, war, zu ermitteln, ob es sich in diesem Falle um eine wirkliche Pepsinverdauung handelte, oder ob es eine Art Losreißung, Zerkleinerung des koagulierten Ovalbumins an der positiven Seite war.

Ich habe in der Tat einige Male beobachtet, daß der elektrische Strom, wenn das Potential stark genug ist, wirkliche Losreißungen der koagulierten Kolloide hervorruft, die durch diesen Vorgang suspendiert werden können.

Um das Problem zu lösen, mußte man wissen, ob die Flüssigkeit Albumin, Albumosen oder Peptone enthielt. Ich habe folglich die an beiden Seiten gesammelte Flüssigkeit hierauf geprüft. Diese Flüssigkeiten werden zuerst mit kohlensaurem Natron neutralisiert und filtriert. Das Filtrat wird mit Ammoniumsulfat gesättigt, und die gefällten Albumosen werden gesammelt und mit einer Lösung von Bariumcarbonat gekocht. Die filtrierte Flüssigkeit gibt die Biuretreaktion. Andererseits wird die Flüssigkeit, von der man die Albumosen getrennt hat, von neuem mit Ammoniumsulfat in der Siedehitze bis zur Sättigung behandelt, bei erst leicht saurer, dann neutraler, dann leicht alkalischer Reaktion und filtriert; diese Flüssigkeit zeigt die den Peptonen charakteristische Biuretreaktion. Während man nun weder Albumosen noch Peptone an der negativen Seite findet, findet man sie sicher an der positiven.

Es ist also nicht nur elektrische Losreißung des Albumins an der positiven Seite vorhanden, sondern eine wirkliche bis zum Peptonstadium gehende Pepsinverdauung. Zum Zwecke der Kontrolle habe ich folgende Versuche angestellt:

Ein U-Rohr (Fig. 1) enthält unten koaguliertes Ovalbumin. Der ganze Apparat wird alsdann mit einer wässerigen Pepsinlösung ohne irgendwelchen Zusatz von Salzsäure gefüllt. Das Potentialgefälle beträgt 0,3 Voltzentimeter, und die Intensität 0,00093 Ampere. Nach 48 Stunden ist die Reaktion an der negativen Seite alkalisch und an der positiven Seite sauer; es findet ein Transport der Flüssigkeit nach dem negativen Pole statt, und das Sinken des Niveaus an der positiven Seite beträgt 5 cm. Man bemerkt an der Seite des positiven Pols eine Opalescenz gleich derjenigen, die man bei salzsaurem Pepsin beobachtet; überall anders ist die Flüssigkeit klar; das Ovalbumin der positiven Seite ist etwas zerrissen und gleicht einem Schwamm; im Gegensatz dazu ist dasjenige der negativen Seite kompakt geblieben. Es hatte also ein partieller Angriff begonnen.

2. Ich stelle eine mit der vorhergehenden identische Untersuchung an, aber ich tue auf jede Seite eine Lösung von 8‰ Chlornatrium, enthaltend 4‰ Salzsäure und kein Pepsin. Potentialgefälle = 0,3 Voltzentimeter, Intensität = 0,00093 Ampere. Nach 48 Stunden ist die Reaktion noch an beiden Seiten sauer, im Niveau der Gummipfropfen *CC'*.

Die Flüssigkeit hat sich im ganzen um 3 cm nach dem positiven Pol bewegt.

Die Zweige, in die die Platinelektroden tauchen, sind auf beiden Seiten absolut klar. Das Albumin hat an der positiven Seite einen Angriff erlitten, der unbedeutend, aber unzweifelhaft ist; die Flüssigkeit enthält tatsächlich an dieser Seite Acidalbumin, aber weder Albumosen noch Peptone.

Der elektrische Strom verursacht also eine wirkliche Losreißung des Albumins an der positiven Seite, aber dieses Phänomen kommt nur in unbedeutendem Verhältnis in den beschriebenen, mit salzsaurem Pepsin angestellten Versuchen in Betracht.

Aus diesen Untersuchungen folgt:

Das Pepsin wandert, so wie ich es schon vor zwei Jahren dargelegt habe, nach dem negativen Pol. Man kann diese Untersuchungen in den verschiedensten Weisen variieren, kommt aber schließlich zu denselben Resultaten.

So habe ich festgestellt, daß, wenn man die Pepsinlösung auf die positive Seite und destilliertes Wasser auf die negative Seite über Ovalbumin bringt, weder auf der positiven noch auf der negativen Seite etwas geschieht. Wenn man die umgekehrte Untersuchung macht, d. h. Pepsin auf die positive Seite und destilliertes Wasser auf die negative Seite tut, so erhält man durch den Strom vermittelte Pepsinverdauungen, die in bezug auf Schnelligkeit und Intensität genau denjenigen gleichen, die ich beschrieben habe.

Bei allen diesen Untersuchungen habe ich immer die Vorsicht gebraucht, einen Kontrollapparat aufzustellen, d. h. ein Rohr, das an seinem unteren Teil koaguliertes Eiweiß enthielt, über das man dieselbe salzsaure Pepsinlösung tat und auf die man den Strom nicht wirken läßt. Unter diesen Bedingungen hat man nach 24 Stunden nur unbedeutende Verdauungen.

Wenn man in dem Apparat (Fig. 1) nach 2 oder 3 Stunden den Strom umkehrt, so bemerkt man, daß die Verdauung an der Seite, wo sie begann, aufhört, und daß der Angriff des Albumins auf der anderen Seite einsetzt, aber langsamer fortschreitet.

Bei allen diesen Untersuchungen außerhalb der soeben von mir beschriebenen Phänomene beobachtet man immer Wanderungen der Flüssigkeit gegen einen der Pole, ohne daß eine Wanderung des Ovalbumindiaphragmas stattfände.

In den Fällen, wo man zwischen die rechte und linke Seite des Apparates eine Gelatinesäule einschiebt, bemerkt man

kompliziertere Phänomene, die den Transport der Flüssigkeit mehr oder weniger vollständig verdecken. Diese Nebenerscheinungen sind entweder ein Transport der Gelatinesäule oder eine beträchtliche Quellung der Gelatine an der positiven oder negativen Seite, je nach der Natur der in dem Apparat befindlichen Flüssigkeit.

Es mögen einige Untersuchungsbeispiele dieser Art folgen: Eine 10%ige Gelatinelösung in 1%igem Kochsalz wird in das Rohr gefüllt; der Potentialfall ist 0,2 Voltzentimeter und 0,016 Ampere. Die Pepsinlösung ist $^1/_2$% in 0,4%iger Salzsäure. Nach 4 Stunden hat man eine Wanderung des Wassers nach dem positiven Pol (10 cm) und zu gleicher Zeit Veränderung der Gelatine am positiven Pol (2 cm).

Dasselbe Experiment mit denselben Flüssigkeiten, aber ohne Pepsin im gleichen elektrischen Feld, ergibt allein einen Transport der Flüssigkeitssäule von 3 cm in demselben Sinne, aber die Gelatine, deren Niveau sich an der positiven Seite nicht verändert hat, nahm an der negativen Seite erheblich zu, derart, daß sie fast die Stelle erreicht, wo sich der Gummipfropfen *C'* befindet.

Bei einer anderen Untersuchung derselben Art, die genau in derselben Weise angestellt wurde, mit einem Gelatinediaphragma in einem Feld von 0,6 Voltzentimeter und 0,013 Ampere, findet man nach 48 Stunden 4 cm Wanderung in den Fällen, wo die Flüssigkeit Pepsin enthält, und nur 1 cm, wenn sie keins enthält, und man findet wieder an der negativen Seite die riesige Anschwellung der Gelatine, die im vorhergehenden Falle beobachtet wurde.

Bei einer anderen Untersuchung mit einer Byla-Pepsinlösung von $^1/_2$% in 0,4%iger Salzsäure und 0,8%iger Kochsalzlösung bei 0,4 Voltzentimeter und 0,011 Ampere fand eine Flüssigkeitswanderung von 5 cm nach dem positiven Pol durch die Gelatine hindurch statt. Letztere hatte sich an der positiven Seite nicht verändert, aber an der negativen Seite hat ihre Höhe um $1^1/_2$ cm zugenommen nach der positiven Seite zu; es ist also eine Quellung der Gelatine an der Seite des negativen Pols vorhanden.

Dieselbe Untersuchung an Gelatine in *AA'A*, über die man aber nur eine 0,8%ige Kochsalzlösung ohne Säure und ohne Pepsin brachte, ergibt eine Wanderung der Flüssigkeit nach dem negativen Pol, aber weder auf der einen noch auf der anderen Seite eine Gelatineschwellung; überdies wandert die Gelatine auf globale Art um 1 cm nach dem positiven Pol, d. h. im umgekehrten Sinne wie die Salzlösung.

Während also meine Untersuchungen von vor 2 Jahren sowie diejenigen von Michaelis und die eben mitgeteilten zeigen, daß das Pepsin in seinem natürlichen Milieu (als Magensaft) eine elektropositive Ladung hat, wandert die Flüssigkeit, in der sich dieses Pepsin befindet, im umgekehrten Sinne zu der des Fermentes.

Diese Ladung ist zum großen Teil der Säure zuzuschreiben, da sie verschwindet und sogar umgekehrt wird, sowie die Säure verschwindet, aber bei einer gleichen Menge Salzsäure wird die Ladung erheblich vermehrt, je nachdem Pepsin vorhanden ist oder nicht.

Ich habe alle diese Versuche mit Ovalbumin wiederholt, die Resultate sind absolut entsprechend.

Wenn man in das Ovalbumin enthaltende U-Rohr destilliertes Wasser füllt, erhält man durch den durchgeführten Strom eine Wanderung der Flüssigkeit nach dem negativen Pol. Das destillierte Wasser nimmt also durch das koagulierte Ovalbumin eine elektro-positive Ladung an.

Wenn man an Stelle des destillierten Wassers Magensaft oder angesäuertes Wasser tut, so sind die Phänomene umgekehrt; das Wasser wird elektro-negativ durch das Ovalbumin hindurch. Alles dies ist durchaus bekannt. Aber der gekochte Magensaft verhält sich wie destilliertes Wasser, während der dialysierte Magensaft sich wie natürlicher Magensaft verhält.

Es scheint mir, daß alle diese Resultate nur auf eine einzige Art erklärt werden können. Das Pepsin ist in seinem natürlichen Milieu elektro-positiv; in einem elektrischen Felde dringt es schnell in das Ovalbumin von der positiven Seite her ein.

Dieses Eindringen ist intim, sozusagen molekular, die Verdauung erfolgt rasch an der positiven Seite; im Gegensatz dazu wandert das Ferment an der negativen Seite von der Oberfläche des Albumins fort und geht in Berührung mit der negativen Platinelektrode zugrunde.

Ich muß nun von einer ganzen Serie von Untersuchungen berichten, die ich über die zerstörende Kraft des Stromes angestellt habe.

1. Wenn man eine 1 $^0/_0$ige Pepsinlösung auf Ovalbumin in einem elektrischen Felde wirken läßt, beobachtet man:

I. In 10 ccm ursprünglicher Lösung	Alb. vollkommen verdaut in 24 St.
„ 10 „ Lösung vom positiv. Pol	Gar keine Eiweißverdauung „ 24 „
„ 10 „ „ „ negativ. „	Alb. $^1/_2$ verdaut . . . . . „ 72 „
„ 10 „ Totalflüssigkeit	„ $^1/_4$ „ . . . . . „ 72 „

II. 1 $^0/_0$ ige Pepsinlösung 0,6 Voltzentimeter, 0,013 Ampere, 12 Stunden; 10 ccm Kontrollösung verdauen 0,10 cg trockenes Fibrin vollständig in 4 Stunden.

An der positiven Seite gar keine Verdauung nach 72 St.
„ „ negativen „ partielle „ „ 72 „
In der Totalflüssigkeit nichts „ 72 „

III. 0,2 $^0/_0$ iges salzsaures Pepsin, 0,51 Voltzentimeter, 0,0018 Ampere; Versuchsdauer 12 Stunden.

10 ccm aus dem Kontrollrohr-Albumin	Verdaut . . . . . in 24 St.
10 „ von der positiv. Seite des Alb.-Rohrs	Keine Verdauung
10 „ „ „ negativ. „ „ „	Ziemlich vollständige Verdauung . . . in 48 „
10 „ Totalflüssigkeit „ „	Zur Hälfte verdaut „ 48 „

Bei allen diesen Untersuchungen beobachtet man sehr deutlich zwei Erscheinungen: einerseits den Transport des Pepsins nach dem negativen Pol; andererseits die Abschwächung, die bis zu vollständiger Zerstörung führen kann.

Die Zerstörung des Pepsins ist vollkommen unabhängig von der Elektrolyse; sie ist vorhanden in Teilen des Apparates, wo die Reaktion ungeändert und der ursprünglichen Reaktion gleich bleibt.

Ich habe eine Zeitlang geglaubt, daß die Zerstörung in Beziehung zu der angewandten Intensität und nicht zur Voltzahl stünde; ich habe mich aber überzeugt, daß sie direkt in Verbindung steht (und ich werde genauer darauf zurückkommen, wenn ich von der Katalase sprechen werde) mit der verbrauchten elektrischen Energie.

In den angeführten Untersuchungen handelt es sich also um zwei Phänomene: das Pepsin wandert nach dem negativen Pol, durchdringt das Ovalbumin an der positiven Seite, verdaut es, und diese Verdauung findet statt, ehe eine Zerstörung stattzufinden Zeit gehabt hätte; dann wird das Ferment vollständig durch den Strom vernichtet, und die Verdauung hört auf. Die Zerstörung ist bedingt durch die angewandte Energie (ausgedrückt in Watt).

IV.

Katalase.

Die Katalase stellt vielleicht die geeignetste Substanz dar, um die Frage der Wanderung von Fermenten zu studieren.

Ich habe pulverisierte Schweineleber von Byla benutzt, um Katalaselösungen herzustellen; dieses Leberpulver ist außerordentlich wirksam, es gestattet die augenblickliche Herstellung von Katalaselösungen. Es genügt, das Pulver in einem Mörser mit der nötigen Menge Wasser anzureiben und nach etwa 15 Minuten zu filtrieren.

Ich habe Katalaselösungen entweder mit destilliertem Wasser oder mit 0,8 %iger Kochsalzlösung hergestellt. Die Lösungen mit destilliertem Wasser sind weniger ergiebig als diejenigen mit physiologischer NaCl-Lösung. Manchmal ließ ich das Leberpulver 24 Stunden lang in Wasser weichen; ich nehme gewöhnlich 5 g Leberpulver und digeriere 24 Stunden mit 200 ccm destilliertem Wasser in Zimmertemperatur, am nächsten Tage wird filtriert, und nun ermittelt man die Wirksamkeit der Katalase vor und nach dem elektrischen Transport. Zu folgenden Untersuchungen habe ich den Apparat Fig. 1 benutzt.

Ich brauche ein elektrisches Feld von 0,6 Voltzentimeter und 0,005 Ampere; man läßt den Strom 24 Stunden einwirken, schließt die Hähne und entnimmt Proben an der positiven und negativen Seite. Man bemerkt, daß die Reaktion auf dem Niveau der Gummipfropfen *CC'* neutral geblieben ist. 5 ccm Katalase werden so auf jeder Seite abgehoben und mit 5 ccm der Kontrollösung in ihrer katalytischen Einwirkung auf Wasserstoffsuperoxydlösung verglichen. Benutzt wurde Hydroperoxyd von Merck. Die Reaktionsrohre werden in einem Thermostaten bei 25° belassen und die quantitative Bestimmung des H_2O_2 wird mittels einer $^n/_{100}$-Lösung von $KMnO_4$ ausgeführt.

Dabei wurden folgende in Kurven dargestellte Ergebnisse erhalten:

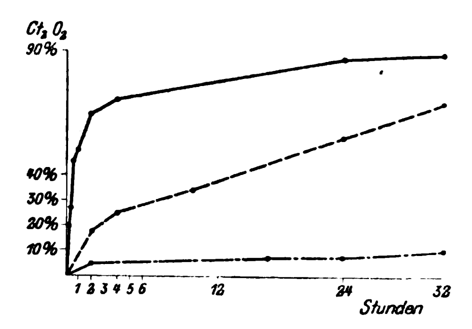


Fig. 2. 0,6 Voltzentimeter. 0,013 Amp.
Dauer d. Kataph. 32 Stunden.

————————	Ursprüngliche Katalase.
—·—·—·—	Aus dem anodischen Gefäß.
- - - - - - - -	Aus dem katodischen Gefäß.

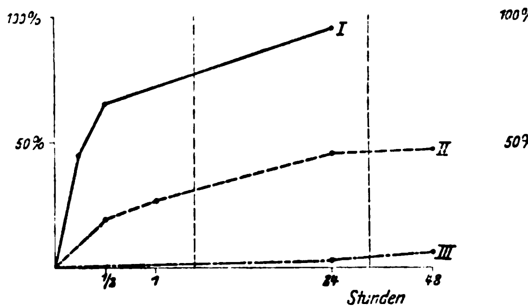


Fig. 3. 0,42 Voltzentim. 0,0084 Amp. Dauer 22 Stunden.

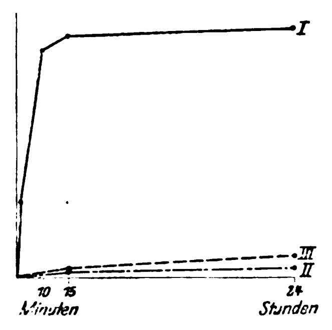


Fig. 5. 0,5 Voltzentim. 0,014 Amp. Dauer 48 Stunden.

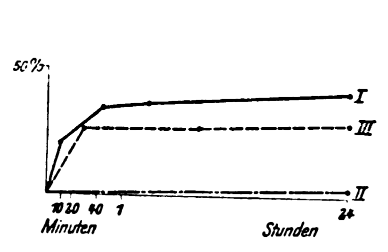


Fig. 6. 0,95 Voltzentim. 0,0023 Amp. Dauer 24 Stunden.

Fig. 4. 0,64 Voltzentim. 0,0001 Amp. Dauer 30 St.

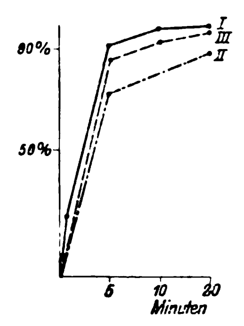


Fig. 7. 0,72 Voltzentim. 0,0009 Amp. Dauer 4 Stunden.

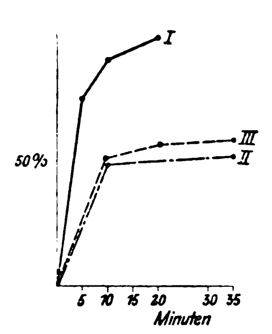


Fig. 8. 0,3 Voltzentim. 0,0001 Amp. Dauer der Stromwirkung 48 Stunden.

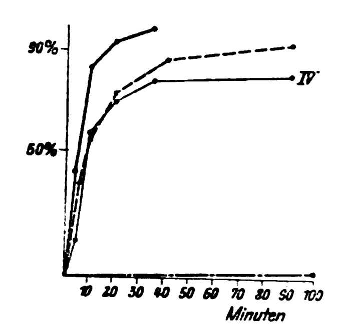


Fig. 9. 0,3 Voltzentim.
0,0001 Amp. Dauer 5 Stunden.

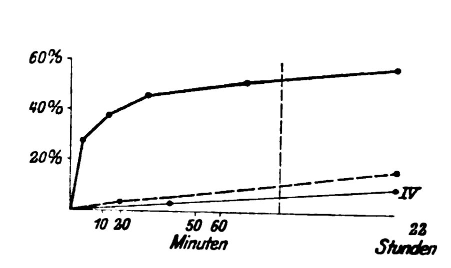


Fig. 10. 0,8 Voltzentim. 0,003 Amp.
Dauer 22 Stunden.

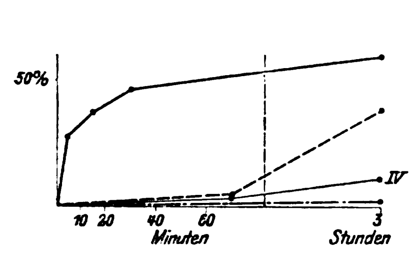


Fig. 11. 0,6 Voltzentim. 0,003 Amp.
Dauer 22 Stunden.

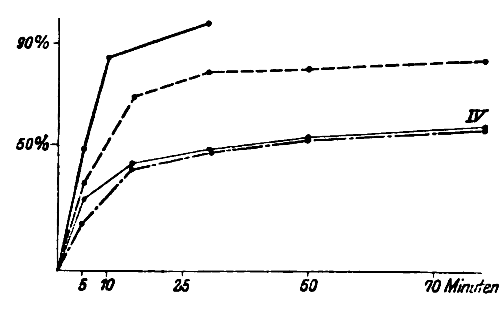


Fig. 12. 0,48 Voltzentim. 0,0052 Amp.
Dauer $2^1/_2$ Stunden.

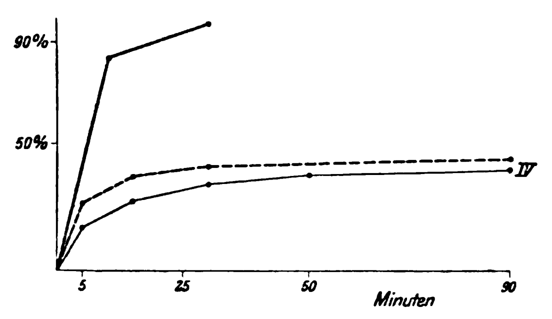


Fig. 13. 0,56 Voltzentim. 0,0074 Amp.
Wirkungszeit des Stromes $3^1/_2$ Stunden.

Die vollen Linien zeigen die Reaktionskurve der verwendeten Katalase an; die aus kleinen Kreuzen gebildeten Kurven geben die Wirksamkeit der am positiven Pol gesammelten Flüssigkeit an, die unterbrochenen Linien diejenige der am negativen Pol gesammelten

Flüssigkeit. Die Figuren 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 8 geben die Kurven von 7 Untersuchungen an. In den Figuren 9, 10, 11, 12 und 13 existiert eine mit IV bezeichnete ergänzende Kurve, die die katalytische Kraft der Globalflüssigkeit angibt, auf die der Strom gewirkt hat, und die, unabhängig von der Wanderung, die Wirkung des Stromes auf die ganze katalytische Flüssigkeit zeigt. Man sieht bei allen Kurven ohne Unterschied sofort, daß die am negativen Pol aufgefangene Flüssigkeit immer viel aktiver ist als die am positiven Pol. Die ersten Kurven zeigen, daß die Katalase elektro-positiv ist, da die am negativen Pol gesammelte Flüssigkeit viel aktiver war als die vom positiven Pol. Dieses Phänomen ist klar ersichtlich in den Fi guren 2, 3, 4 und6 Figur 5 gibt die Wirksamkeit einer Katalase wieder, auf die der Strom sehr lange Zeit gewirkt hat und die dabei stark verändert worden ist. Man findet dessenungeachtet noch sehr ausgesprochene Unterschiede an den beiden Polen. In der Kurve der Figur 7 wirkte dagegen der Strom kurze Zeit ein, und es ist eine wenig ausgesprochene Abschwächung, aber ein Überwiegen der Wirksamkeit am negativen Pole vorhanden. Bei Figur 2 erwies sich die am positiven Pole aufgefangene Flüssigkeit absolut inaktiv, deshalb ist ihre Kurve nicht angegeben.

In bezug des Eintritts der Zerstörung gebe ich hier eine Tabelle, bei der die in jeder Untersuchung angewendete elektrische Energiemenge in Watts angegeben ist.

Figur	Watt
2	898,56
3	279,41
4	6,91
5	1209,6
6	168,78
7	9,33
8	5,18
9	0,54
10	190,96
11	142,56
12	22,44
13	42,21

Man sieht an dieser Tabelle, daß ein sehr naher Parallelismus zwischen den verbrauchten Wattmengen und der Zerstörung der Katalase besteht.

Ein sehr wichtiger Punkt ist noch hervorzuheben, daß die beobachtete Abschwächung des Ferments kein Koagulationsphänomen ist.

Ganz kürzlich hat Jacques Loeb[1]) vorgeschlagen, das Pepsin als eine schwache Base zu betrachten und das Trypsin als schwache Säure, und, konform diesen Hypothesen, würde

---

[1]) Jacques Loeb, diese Zeitschr. 19, 534, 1909.

er wahrscheinlich die Katalase als schwache Base betrachten. Diese Theorie, die gewisse Tatsachen erklären würde, läßt indessen einige Einwände zu.

Wirklich würde sie die angeführte Tatsache[1]) erklären, daß Pepsin, dessen Wirkung durch Hinzufügen von Salzsäure vermehrt wird, für gewisse Säurekonzentrationen ein Wirkungsmaximum besitzt; wenn aber die Säuredosis das Optimum überschreitet, sieht man die Aktivität des Ferments abnehmen und sogar verschwinden. Wenn man nun die Erklärung zuläßt, daß die Wirkung des Pepsins nicht am undissoziierten Molekül, sondern an dem Pepsinion haftet, und ebenso am Trypsinion, so erklärt sich die Wirkung auf folgende Weise: Das Hinzufügen einer starken Säure zu einer Pepsinlösung führt die Zunahme der aktiven Menge des katalytischen Agens herbei.

Loeb stützt sich auch auf die Arbeiten von Stieglitz und seinem Schüler, nach denen das Hinzufügen einer Säure die katalytische Spaltung von Estern begünstigt, indem der Ester mit der Säure ein Salz bildet, das viel stärker löslich ist als der Ester selbst, der sich nur wie eine schwache Base verhält. Also kann durch diese Hypothese die erwähnte Tatsache, daß eine zu große Säuremenge die Wirksamkeit des Pepsins herabmindert, erklärt werden mit der Annahme, daß, sobald das Pepsin gesättigt ist, ein weiterer Zusatz von Säure die Dissoziation des Pepsinchlorhydrates zurückdrängt nach dem allgemeinen Gesetze, daß bei Zugabe eines anderen Salzes mit gleichem Ion zu einer Salzlösung die Dissoziation abnimmt. Aber gegen die Loebsche Hypothese spricht die Tatsache, die ich beobachtet und ausführlich beschrieben habe: die Verdauungswirkung des Pepsins auf Ovalbumin in einem elektrischen Feld.

Vorher habe ich gezeigt, daß in meinem U-Rohr mit seinem horizontalen Zweig von koaguliertem Ovalbumin die Eiweißverdauung sich an der positiven Seite einstellte. Also würde sich das Pepsinion unter diesen Bedingungen nach dem negativen Pol zu bewegen und so auf das Albumin wirken. Es ist unter diesen Umständen kaum anzunehmen, daß die Verdauungswirkung dem sauren Teil des Salzes zuzuschreiben sei.

Andererseits verhält sich die Katalase genau wie das Pepsin: sie wandert dem negativen Pol zu. Nun wird die katalytische Kraft der Leberkatalase nicht nur keineswegs durch eine Spur von Säure aktiviert, sondern sogar stark in einem Milieu gestört, das nicht neutral oder selbst sehr leicht alkalisch ist.

V.

Außer den erwähnten Erscheinungen habe ich auch die Wanderung verschiedener organischer und anorganischer Kolloide beobachtet, indem ich dieselbe Technik anwandte und zwischen

[1]) Iscovesco, Compt. rend. Soc. Biol. 2, 282, 1906.

die rechte und linke Seite des Apparates am unteren Teile des U-Rohres eine Säule fester Gelatine brachte. Ich werde einfach die erhaltenen Resultate angeben und für jede Gruppe nur 1 oder 2 Versuchsprotokolle anführen, um Wiederholungen zu vermeiden.

1. Ich bringe in den Apparat auf die negative Seite über die in destilliertem Wasser erhärtete 5%ige Gelatine eine lange dialysierte Lösung von Arsensulfid. In den anderen vertikalen Zweig tue ich, und zwar in gleichem Niveau wie auf der negativen Seite, destilliertes Wasser und schicke einen Strom von 0,0006 Ampere Intensität und einem Potentialgefälle von 1,18 Voltzentimeter hindurch. Ich lasse den Strom 18 Stunden lang hindurchgehen und beobachte, daß kolloidales Arsen in die Gelatine gedrungen ist und sie fast vollständig durchquert, so daß man eine dunkelgelbe Wolke von 2,6 cm Länge über der freien Oberfläche der Gelatine an der positiven Seite bemerkt. Überdies ist das Niveau des Wassers um 2 cm nach dem positiven Pol zu gestiegen, und die Gelatine selbst hat sich um 1 cm im selben Sinne verändert. Man hat also in diesem Falle Wanderung des Schwefelarsens nach dem positiven Pol durch die Gelatine hindurch, und des Wassers nach dem negativen Pol im umgekehrten Sinne. Die Veränderung der Gelatine, die in 18 Stunden 1 cm betrug, ist geringer als die des Wassers; das Wasser hat sich im ganzen mit einer 2mal größeren Geschwindigkeit verändert, aber im selben Sinne wie die Gelatine.

2. Ich bringe auf die positive Seite des U-Rohres eine Säule von 10 cm lang dialysiertem Magdalarot und auf die negative Seite, bis zu gleichem Niveau, destilliertes Wasser. Ich lasse den Strom 18 Stunden hindurchgehen. Das Potentialgefälle beträgt 1,18 Voltzentimeter und die Intensität 0,05. Ich bemerke ein viel geringeres Eindringen als beim Schwefelarsen; in der Tat dringt das Magdalarot nur bis zu 3 cm Tiefe ein, die Gelatine hat sich gar nicht verändert, das Wasser ist um 1 cm nach dem negativen Pol zu gewandert; es hat sich also im selben Sinne verändert wie das Magdalarot.

3. Dasselbe Experiment wie das vorhergehende, aber mit kolloidalem Eisen an der positiven Seite. Potentialgefälle 1,14 Voltzentimeter, Intensität 0,006 Amp. Vollständige Imprägnation der Gelatine in einer Höhe von 14 mm an der positiven Seite. Wanderung des Wassers um 2 cm nach dem negativen Pol zu. Die Gelatine hat sich nicht gerührt.

4. Dieselbe experimentelle Anordnung wie in dem vorigen Experiment. Potentialgefälle 1,4 Voltzentimeter. Intensität 0,0007 Ampere. An der negativen Seite mit Gummi stabilisierte, durch elektrische Zerstäubung gewonnene Silberlösung, an der positiven Seite destilliertes Wasser. Dauer der Beobachtung 18 Stunden. Beträchtliches Eindringen des Elektrargols, das vollständig die ganze Gelatinesäule durchwandert (13 cm) und an der freien Oberfläche der entgegengesetzten Seite er-

scheint. Die Gelatine hat keine bemerkenswerte Veränderung erfahren. Das Wasser ist um $^1/_2$ cm dem negativen Pol zu gewandert.

Man sieht, daß bei den Untersuchungen 1 und 3, wo das Kolloid elektro-negativ ist, das Eindringen erheblich ist. Dagegen ist es in den Experimenten 2 und 4, wo das Kolloid elektro-positiv ist, d. h. mit umgekehrten Vorzeichen zur Gelatine, außerordentlich langsam und verzögert. Überdies verhält sich das Wasser in den Experimenten 1 und 3, als ob es eine elektro-positive Ladung besäße, indem es im umgekehrten Sinne als das benutzte Kolloid wandert und die Gelatine, die sich beim Experiment 1 wie ein positives Kolloid verhält, rührt sich nicht beim Experiment 3.

Bei den Experimenten 2 und 4 hätte man erwarten sollen, daß das Wasser auch im umgekehrten Sinne als das Kolloid wandere; dies war jedoch nicht der Fall. Es wandert nämlich genau wie in den Untersuchungen 1 und 3, d. h. mit einer elektro-positiven Ladung.

VI.

Ich habe auch den elektrischen Transport des Blutserums, erhalten durch spontane Koagulation, studiert.

Dazu brauchte ich eine Gelatinesäule von 5 % in einer Salzlösung von 0,85 %igem Chlornatrium.

1. Bei der ersten Reihe von Untersuchungen brachte ich Pferdeserum auf die positive Seite und eine 0,85 %ige Lösung von NaCl auf die negative Seite. Potentialgefälle 1,25 Voltzentimeter, Intensität des Stromes 0,0003. Dauer des Experiments 10 Stunden. Die Flüssigkeit wandert beträchtlich nach dem negativen Pole zu; 4,5 cm Niveauunterschied. Es kommt zu einem deutlichen Durchgang des Serumalbumins nach der negativen Seite durch die Gelatine. Das Serum ist am unteren Teile der Säule trübe und hat ein gallertartiges und koaguliertes Aussehen angenommen. Die Gelatine selbst ist aufgequollen und hat sich im ganzen um 5 cm nach dem positiven Pole zu bewegt. Es ist ein erheblicher Durchgang des Serumalbumins vorhanden; der ganze mittlere Teil der Gelatinesäule ist von dicken Stücken des koagulierten Albumins erfüllt, und einige große Flocken gelangen fast an die freie Oberfläche der Gelatine an der negativen Seite.

Diese Untersuchung beweist unwiderlegbar das Vorhandensein von elektro-positiven Albuminen im Serum. Diese Tatsache ist übrigens schon früher von mir dargelegt worden.[1])

L. Michaelis hat soeben über diesen Gegenstand[2]) eine Arbeit veröffentlicht, in der er zu dem Schlusse gelangt, daß

---

[1]) Iscovesco, Compt. rend. Soc. Biol. 2, 470 u. 568, 1906.

[2]) L. Michaelis, diese Zeitschr. 19, 181, 1909.

das absolut neutrale Albumin des Serums elektro-negativ ist. L. Michaelis scheint bez. dieser Frage nicht mehr als bez. des Pepsins über meine früher veröffentlichten Arbeiten orientiert gewesen zu sein.

Mit Absicht spreche ich nicht von den Arbeiten von Hardy und Pauli über die Ladung des absolut reinen und Elektrolyten baren Albumins; denn so, wie ich schon in meinen früheren Mitteilungen in der Soc. Biol. betonte, ist dieses eine ganz andere Frage. Vom physiologischen Standpunkte aus ist es nicht das Wichtigste zu wissen, welche elektrische Ladung ein ideales Albumin, absolut frei von jeder Spur Elektrolyten, das in keinem Lebewesen vorhanden ist, haben kann; was die Physiologen interessiert, das ist die elektrische Ladung und das Verhalten der Albumine in den normalen Säften des tierischen und menschlichen Organismus. Nun sind, so wie ich eben und früher erwähnt, im Serum erhebliche Mengen elektro-positiver Proteine vorhanden.

2. Derselbe Apparat, dieselbe Versuchsanordnung, aber die umgekehrte Reihenfolge wie vorher, d. h. das Serum wurde diesmal über die Gelatine an die negative Seite und das destillierte Wasser an die positive Seite gebracht. Potentialgefälle 1,33 Voltzentimeter, Intensität 0,0003. Das Wsser wandert wieder nach dem negativen Pol zu, aber nur 5 mm. Das Serum wird in der ganzen Ausdehnung getrübt. In der Gelatine beobachtet man einen sehr ausgesprochenen, aber ganz andersartigen Durchgang als zuvor. Man sieht darin nicht wie vorher kompakte Stücke Albumin, sondern weiße Wolken, die sich nur bis ungefähr zur Mitte der Gelatinesäule ausdehnen. Man bemerkt überdies an der freien Oberfläche der Gelatinesäule an der positiven Seite ein schmutzig weißgelbes Coagulum und in der Mitte der Salzwassersäule an der positiven Seite ein dickes weißes Albumincoagulum, das eine vertikale Länge von 15 mm hat. Die Gelatine selbst hat sich um 4 cm nach dem positiven Pol zu bewegt.

Alle Untersuchungen dieser Art beweisen also, daß im Serum elektronegative Albumine vorhanden sind, und daß überdies unter diesen einige existieren, die viel schneller als andere wandern. In der Tat hat sich eine Gruppe, die erste wahrscheinlich, bestehend aus den feinsten Granulationen, mit der ganzen Gelatinesäule nach dem negativen Pol zu bewegt und ist sogar bis in die Säule destillierten Wassers gelangt, wo man sie in koagulierter Form wiederfindet, während die andere Gruppe, wahrscheinlich aus viel stärkeren Granulationen bestehend, in demselben Zeitraum mit dem gleichen Aufwand elektrischer Energie nur die Hälfte desselben Weges zurücklegen konnte.

Diese zweite Gruppe von Untersuchungen bestätigt also die erwähnte Tatsache[1]), daß das Serum zu gleicher Zeit elektro-positive und elektro-negative Proteine enthält, die im elektrischen Felde getrennt wandern.

---

[1]) Iscovesco, Compt. rend. Soc. Biol. l. c.

3. Ich habe eine Reihe von Experimenten angestellt, um zu beobachten, was eintritt, wenn man über eine mittlere Säule fester Gelatine auf beide Seiten zugleich Serum bringt.

Potentialgefälle 1,15 Voltzentimeter, Intensität 0,0025. Dauer der Untersuchung 20 Stunden. Man bemerkt bei dieser Untersuchung, daß das Pigment des Serums deutlich elektro-positiv ist; denn es gelangt bis auf 1 cm unter die freie Oberfläche der Gelatine an der negativen Seite. An der positiven Seite wird im ganzen Vertikalzweig das Serum in einen gelbdurchscheinenden, gelatinösen, glasigen Block verwandelt, der kleben bleibt, wenn man das Rohr umkehrt. In Wirklichkeit ist die Gelatine an der positiven Seite in beträchtlicher Ausdehnung gequollen, so daß es unmöglich ist, die ursprüngliche Wanderung festzustellen. An der negativen Seite ist das Serum flüssig geblieben und von oben bis unten trübe. In der Gelatine beobachtet man, ausgehend von der positiven Oberfläche, einen Block koagulierten Albumins, der ins Innere der Gelatine in einer Tiefe von 4 cm eintaucht, mit konischer Form und nach dem positiven Pol gewandter Basis und einer Länge von 4,5 cm. Jenseits und vom Gipfel dieses Eiweißblocks durch einen freien Raum getrennt, enthält die Gelatine eine runde, transversal abgeplattete Masse festen koagulierten Albumins. An der negativen Seite ist auch Albumin ausgedrungen, aber weniger reichlich und flockig mit wolkigem Aussehen.

Die Proteine, die aus der positiven Seite gelangt sind, sind folglich von denen, die aus der negativen Seite abstammen, durch Intervalle von $1^1/_2$ cm getrennt, wo die Gelatine absolut durchsichtig und klar ist.

4. Ich habe auch die Wanderung der Globuline studiert. Diese Globuline wurden durch Dialysieren von Pferdeserum in einem Viscosesäckchen erhalten. Der Globulinrückstand wird mehrere Male gründlich und rasch mit destilliertem Wasser gewaschen, dann in einem Mörser mit einer 0,8%igen NaCl-Lösung verrieben. Die so erhaltene milchige Emulsion wird in jeden der Schenkel des U-Rohres über die 5%ige feste Gelatine in 0,8%iger Kochsalzlösung gefüllt.

Der Apparat wird in einen Stromkreis von 1,13 Voltzentimeter und 0,00083 Ampere geschaltet. Nach 15 Stunden bemerkt man ein sehr deutliches Eindringen der Globuline an der negativen Seite; ein großer Teil der Gelatinesäule ist an der negativen Seite mit koagulierten Globulinen durchsetzt; an der positiven Seite findet man gar keine Durchdringung. Die Globuline des Serums sind also ausgesprochen elektronegativ.

Ich erinnere bei dieser Gelegenheit daran, daß ich schon 1907[1]) mit anderen Methoden zu demselben Schlusse gelangt war. In einer Reihe von Arbeiten gab ich an, daß zwischen Plasma und Serum der Unterschied besteht, daß Plasma elektropositive und elektro-negative Globuline enthält und Serum nur

---

[1]) Iscovesco, Compt. rend. Soc. Biol. 1, 1907.

elektro-negative Globuline; hierauf hatte ich eine physikalisch-chemische Theorie über die Koagulation des Blutes aufgebaut.

Ferner habe ich geprüft, wie sich das Ovalbumin in einem elektrischen Felde durch reine Gelatine oder Mischungen von Gelatine und Cholesterin, Lecithin und Agar-Agar usw. bewegt.

Noch nicht abgeschlossene Versuche betreffen die Wanderung der Albumine und Globuline des Serums, wo auf verschiedene Weise die Konzentrationen und die Natur der Salze variiert ist; hierüber soll später berichtet werden.

Die isoelektrische Konstante und die relative Aciditätskonstante des Serumalbumins.

Von

L. Michaelis und B. Mostynski (Charkow).

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des städt. Krankenhauses am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 5. Januar 1910.)

Die elektrische Wanderung kolloidal gelöster Stoffe im Stromgefälle wurde früher von zwei verschiedenen Gesichtspunkten aus studiert. Auf der einen Seite steht V. Henri[1]) und seine Mitarbeiter, denen es vor allem darauf ankam, die Wanderungsrichtung der Kolloide in völlig reiner, elektrolytfreier wässeriger Lösung festzustellen, und von diesem Gesichtspunkt aus positiv und negativ geladene Kolloide unterschieden. Auf der anderen Seite zeigten Hardy[2]) und Pauli[3]), daß Eiweißlösungen je nach der Reaktion des Mediums verschieden wanderten, in saurer Lösung kathodisch, in alkalischer anodisch. Sie kamen beide unabhängig voneinander und an verschiedenem Material — Hardy mit denaturiertem, Pauli mit genuinem Serumeiweiß — zu der Auffassung, daß Eiweiß in ganz elektrolytfreier wässeriger Lösung keine elektrische Ladung habe. Diese Auffassung trifft, wie Pauli[4]) inzwischen selbst erkannt hat und wie L. Michaelis[5]) gleichzeitig zeigte, jedoch nicht zu, und sie konnte nur dadurch aufkommen, daß keiner der früheren Unter-

[1]) Mlle. P. Cernovodeanu und V. Henri, Soc. Biol. 1907, 669 u. 671; Bierry, V. Henri und Schaeffer, ebenda 1907, 226; V. Henri, diese Zeitschr. 16, 473, 1909 u. a. a. O.

[2]) Hardy, Journ. of Physiol. 24, 288, 1899.

[3]) Pauli, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 531, 1906.

[4]) Pauli u. Handovski, diese Zeitschr. 18, 340, 1909 (s. bes. S. 356).

[5]) L. Michaelis, diese Zeitschr. 19, 181, 1909.

sucher sich des richtigen Mittels bediente, um Aciditäten oder Alkalitäten sehr niederen, aber trotzdem exakt definierten Grades herzustellen.

Während also früher angenommen wurde, daß der „isoelektrische Punkt" des Serumeiweißes mit der neutralen Reaktion zusammenfalle, zeigte L. Michaelis, daß der isoelektrische Punkt des Albumins einer merklich sauren Reaktion der Lösung entspräche, deren $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration er zunächst in roher Weise auf 10^{-6} abschätzte. Es wurde gleichzeitig theoretisch unter der Voraussetzung, daß man das Albumin als einen amphoteren Elektrolyten auffassen dürfte, die Bedeutung des isoelektrischen Punktes erörtert und abgeleitet, daß bei der Reaktion des isoelektrischen Punktes das Verhältnis der $H^{\cdot}$-Konzentration zur OH'-Konzentration in der Lösung gleich ist dem Verhältnis der Dissoziationskonstante des Albumins in seiner Eigenschaft als Säure zu der entsprechenden Konstante in seiner Eigenschaft als Base. Dieses Verhältnis wurde als „relative Acidität" des Albumins (ebenso der Fermente usw.) bezeichnet und stellt eigentlich, mit Ausnahme der unsicheren Diffusionskoeffizienten, die erste bestimmbare physikalisch-chemische Konstante des Eiweißes (und der Fermente usw.) dar.

Verweilen wir noch einen Augenblick bei den theoretisch abzuleitenden Eigenschaften der isoelektrischen Reaktion, so wäre der früheren Angabe, daß hier ebenso viel Eiweiß-Anionen wie Eiweiß-Kationen vorhanden sind, noch die wichtige Ergänzung hinzuzufügen, daß hier gleichzeitig die Summe der Eiweißionen, im Verhältnis zum nichtionisierten Eiweiß, ein Minimum darstellt.

Das läßt sich einfach und streng folgendermaßen ableiten. Es sei A undissoziiertes Albumin, $A^{\cdot}$ und A' die beiden Albumin-Ionen[1]), k_a und

[1]) Von dem nach Analogie mit den Untersuchungen von Bredig, Zeitschr. f. Elektrochemie 6, 33, 1899, anzunehmenden Zwitter-Ion $^{\cdot}A'$ soll hier nicht weiter die Rede sein. Es muß, unabhängig von der Acidität der Lösung, stets in einem konstanten Verhältnis zum undissoziierten Eiweiß zugegen sein:

$$[^{\cdot}A'] = k_z \, . \, [A],$$

wo k_z sicherlich sehr klein sein wird. Das Zwitter-Ion entzieht sich vorläufig jedem Nachweis und ist bisher nur theoretisch zu postulieren.

k_b die beiden Dissoziationskonstanten des Albumins, so ist nach dem Massenwirkungsgesetz

$$k_a \cdot [A] = [H^{\cdot}] \cdot [A']$$
$$k_b \cdot [A] = [OH'] \cdot [A^{\cdot}].$$

Es ist daher

$$[A'] = \frac{k_a}{[H^{\cdot}]} \cdot [A]$$

und

$$[A^{\cdot}] = \frac{k_b}{[OH^{\cdot}]} \cdot [A].$$

Hieraus folgt, daß das Verhältnis der beiden Eiweißionen zusammen zum nicht-ionisierten Eiweiß, $\frac{A^{\cdot} + A'}{A}$, das als u bezeichnet werden soll,

$$u = \frac{k_a}{[H^{\cdot}]} + \frac{k_b}{[OH']} \text{ ist.}$$

Ersetzen wir $[OH']$ durch $\frac{k_w}{[H^{\cdot}]}$, wo k_w die Dissoziationskonstante des Wassers ist, so ist

$$u = \frac{k_a}{[H^{\cdot}]} + \frac{k_b \cdot [H^{\cdot}]}{k_w}.$$

Nach $[H^{\cdot}]$ differenziert, wird

$$\frac{du}{d[H^{\cdot}]} = -\frac{k_a}{[H^{\cdot}]^2} + \frac{k_b}{k_w}.$$

Setzen wir dieses $= 0$, so erhalten wir als Bedingung für das Minimum

$$-\frac{k_a}{[H^{\cdot}]^2} + \frac{k_b}{k_w} = 0 \quad \text{oder}$$

$$\frac{k_a}{k_b} = \frac{[H^{\cdot}]^2}{k_w}.$$

Da $\frac{[H^{\cdot}]}{k_w} = \frac{1}{[OH']}$, so ist schließlich $\frac{k_a}{k_b} = \frac{[H^{\cdot}]}{[OH']}$ die Minimumbedingung.[1]) Dies ist aber gleichzeitig die Gleichung des isoelektrischen Punktes. Folglich ist die Summe der Eiweißionen ein Minimum, wenn die Acidität der Lösung den isoelektrischen Punkt darstellt.

Wir stellten uns nun zunächst die Aufgabe, mit möglichster Genauigkeit den isoelektrischen Punkt und damit die relative Aciditätskonstante des Serumalbumins experimentell zu ermitteln.

1. Die isoelektrische Reaktion für ungekochtes Serumalbumin.

Darstellung des Materials. Rinderserum wurde mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt

[1]) Daß es ein Minimum, und kein Maximum ist, ergibt sich daraus, daß der zweite Differentialquotient

$$\frac{d_2 u}{d^2[H^{\cdot}]} = \frac{2\, k_a}{[H^{\cdot}]^3}$$

einen positiven Wert hat.

und das Filtrat in Fischblasen unter Zusatz von Thymol oder wenig Toluol bis zum Verschwinden der Schwefelsäurereaktion mit $BaCl_2$ dialysiert. Das erfordert bei häufigerem Wechsel des Wassers gewöhnlich nur 5 bis 10 Tage. Die Albuminlösung wurde mit etwas Toluol aufbewahrt.

Technik der Überführungsversuche. Die Überführung wurde in dem schon früher[1]) genau beschriebenen Apparate ausgeführt. Die Anordnung geschah nach dem Schema

+ Cu in $CuCl_2$	„Säuregemisch" (ohne Albumin)	Dasselbe Säuregemisch mit ca. 1‰ Albumin	Dasselbe Säuregemisch (ohne Albumin)	Ag in ClNa
1	2	3	4	5

Das „Säuregemisch" hatte in den Räumen 2, 3 und 4 stets unter sich gleiche Zusammensetzung, und der Eiweißgehalt im Mittelgefäß 3 war so gering bemessen, daß das Säurebindungsvermögen des Albumins keine meßbare Reaktionsänderung hervorbrachte.

Wie schon früher[2]) auseinandergesetzt wurde, ist die durch den Stromdurchgang geschaffene Reaktionsänderung durch die Anordnung der Elektroden auf ein Minimum beschränkt. Die Hauptrolle für die Reaktionsänderung durch den Strom ist bei sonst üblichen Anordnungen das Fortschreiten der alkalischen Reaktion von der Kathode her, das der sauren von der Anode her. Diese Ursache der Reaktionsänderung ist hier völlig ausgeschaltet. Da es nun nicht möglich ist, die Räume 1 und 2, sowie andererseits 4 und 5 mit der gleichen Flüssigkeit zu füllen, so ist dadurch eine, wenn auch geringfügige Ursache für die Reaktionsänderung gegeben. Aber diese, wenn vorhanden, bewirkt eine nur sehr allmählich von der Grenze 1/2 bzw. 4/5 nach der Mitte zu fortschreitende Reaktionsänderung. Wenn wir daher nach 5 bis 6stündigem Stromdurchgang (von 110 Volt Klemmenspannung) eine ganz leichte Veränderung der Reaktion in dem entnommenen, durchgemischten Inhalt des Raumes 2 bzw. 4 feststellen können, so brauchen wir deswegen noch nicht zu befürchten, daß an der einzig für uns wichtigen Stelle, der Grenze 2/3 sowie 4/3, eine wesentlichere Änderung der Reaktion eingetreten

---

[1]) L. Michaelis, diese Zeitschr. 16, 81, 1909. (Apparat nach Landsteiner u. Pauli, mit modifizierten Elektroden.)

[2]) Diese Zeitschr. 16, 81, 1909.

sei, zumal die gesamte Änderung der Reaktion des durchmischten Inhaltes von 2 und von 4 niemals erheblich ist.

Als „Säuregemische" wurden zunächst Mischungen von primärem und sekundärem Natriumphosphat in wechselnden absoluten und relativen Mengen angewendet. Die Resultate waren:

Tabelle I.

Prim. Phosphat / sek. Phosphat	Konzentration der Phosphate	Nach 6stünd. Stromdurchgang: Eiweißgehalt an der Anode	Eiweißgehalt an der Kathode
$\frac{1}{33}$	n/200	+	0
$\frac{1}{33}$	n/200	+	0
$\frac{1}{16}$	n/21	+	0
$\frac{1}{1}$	n/140	+	0
$\frac{1}{1}$	n/340	+	0
$\frac{1}{1}$	n/140	+	0
$\frac{1}{1}$	n/140	+	0
$\frac{16}{1}$	n/140	+	0
$\frac{16}{1}$	n/49	+	0
$\frac{33}{1}$	n/200	+	0
$\frac{33}{1}$	n/200	+	0
$\frac{33}{1}$	n/21	+	0
$\frac{33}{1}$	n/49	+	0
$\frac{50}{1}$	n/200	+	0
$\frac{50}{1}$	n/21	Spur	Spürchen
Reines primäres Phosphat	n/21	Spürchen	„
„	n/50	„	„
„	n/200	„	„
„	n/50	„	„

Man sieht zunächst, daß das Resultat von der absoluten Menge der Phosphate unabhängig ist und nur von dem Verhältnis des primären zum sekundären Phosphat abhängt. Bei allen alkalisch reagierenden Gemischen sowie bei den sauren Gemischen bis zu der Mischung $\frac{\text{prim. Ph.}}{\text{sek. Ph.}} = \frac{33}{1}$ ist die Wanderung des Albumins eindeutig rein anodisch.

Bei dem Gemisch $\frac{50}{1}$ beginnt die Wanderung unentschieden zu werden, und auch bei „reinem primärem" Phosphat ist sie noch unentschieden, noch nicht rein kathodisch.

Da nun so extreme Phosphatgemische wie $\frac{50}{1}$ oder reines primäres Phosphat nicht sehr geeignet sind zur Definition ganz bestimmter [H˙]-Konzentrationen, einerseits weil die Ausgangsprodukte, die krystallisierten Phosphate, nicht rein genug sind — ein Gehalt des angeblich reinen primären Salzes von nur 1°/₀ des sekundären macht die Berechnung der H˙-Konzentration schon hinfällig! —, andererseits, weil in diesem Gebiete sehr kleine Änderungen der Zusammensetzung der Lösung große Änderungen der H˙-Konzentration nach sich ziehen, so erscheinen die Phosphatmischungen überhaupt nicht sehr geeignet für unseren Zweck.

Immerhin können wir den isoelektrischen Punkt mit einer gewissen Annäherung feststellen, wenn wir das Gemisch $\frac{50}{1}$ als das zutreffende vorläufig annehmen wollen.

Nach der Formel[1]):

$$[H^{\cdot}] = 2{,}0 \cdot 10^{-7} \cdot \frac{[\text{prim. Phosphat}]}{[\text{sekund. Phosphat}]}$$

würde sich für das Gemisch $\frac{50}{1}$ berechnen

$$[H^{\cdot}] = 1{,}0 \cdot 10^{-5}.$$

Da aus den soeben erörterten Gründen diese Rechnung nicht mehr streng gültig zu sein braucht, so wurde die H˙-Ionenkonzentration dieses Gemisches mit Hilfe einer Konzentrationskette

[1]) S. darüber: L. Michaelis u. P. Rona, diese Zeitschr. 23, 368, 1910; Anhang.

$$\mathrm{PtH_2} \left| \begin{matrix}\text{Phosphat-}\\ \text{gemisch}\end{matrix} \right\| \begin{matrix}\text{gesättigt. KCl-}\\ \text{Lösung}\end{matrix} \left\| \begin{matrix}{}^{n}/_{10}\ \mathrm{KCl} +\\ {}^{n}/_{100}\ \mathrm{HCl}\end{matrix} \right\| \mathrm{PtH_2}$$

direkt bestimmt und in relativ noch befriedigender Übereinstimmung damit gefunden

$$[\mathrm{H}^{\cdot}] = \text{a) } 1{,}4 \cdot 10^{-5} \text{ und b) } 1{,}2 \cdot 10^{-5}.$$

Als zweites, für dieses Aciditätsgebiet viel geeigneteres Gemisch wurde an Stelle der Phosphate eine wechselnde Mischung von Essigsäure mit Natriumacetat angewendet. Hier ergab sich folgendes:

Tabelle II.

Essigsäure / Natriumacetat	Konzentration	Eiweißgehalt	
		Anode	Kathode
$\frac{9}{1}$	$^n/_{50}$	0	+
$\frac{9}{1}$	$^n/_{50}$	0	+
$\frac{3}{1}$	$^n/_{50}$	0	+
$\frac{3}{1}$	$^n/_{50}$	0	+
$\frac{3}{1}$	$^n/_{200}$	0	+
$\frac{1}{1}$	$^n/_{50}$	0	+
$\frac{1}{1}$	$^n/_{50}$	0	+
$\frac{1}{2}$	$^n/_{50}$	Spürchen	Spürchen
$\frac{1}{2}$	$^n/_{50}$	Spürchen	Spürchen
$\frac{3}{7}$	$^n/_{50}$	Spürchen	Spürchen
$\frac{3}{7}$	$^n/_{50}$	Spürchen	Spürchen
$\frac{1}{3}$	$^n/_{50}$	+	0
$\frac{1}{3}$	$^n/_{50}$	+	0
$\frac{1}{9}$	$^n/_{50}$	+	0
$\frac{1}{9}$	$^n/_{50}$	+	0

Hier markiert sich der isoelektrische Punkt recht scharf zwischen dem Gemisch $\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Natriumacetat}} = \frac{1}{2}$ und $= \frac{3}{7}$. Ob $\frac{1}{2}$ oder $\frac{3}{7}$ besser zutrifft, ließ sich nicht mehr sicher entscheiden. Nach der Formel

$$[H^{\cdot}] = 1{,}8 \cdot 10^{-5} \cdot \frac{[\text{Essigsäure}]}{\alpha \cdot [\text{Natriumacetat}]}$$

wo α der Dissoziationsgrad des Natriumacetats ist, würde sich ergeben:

	bei Annahme totaler Dissoziation des Natriumacetats (d. h. in stark verdünnt. Lös.)	bei einer Dissoziation des Natriumacetats zu 90 % (d. h. etwa in 0,1 n-Lösung)
für das Gemisch $\frac{1}{2}$	$[H^{\cdot}] = 0{,}9 \cdot 10^{-5}$	$1{,}0 \cdot 10^{-5}$
„ „ „ $\frac{3}{7}$	$[H^{\cdot}] = 0{,}77 \cdot 10^{-5}$	$0{,}86 \cdot 10^{-5}$

Die direkte Messung mit Hilfe einer Konzentrationskette ergab für $^{n}/_{10}$-Lösung im Verhältnis $\frac{3}{7}$

a) $1{,}08 \cdot 10^{-5}$
b) $0{,}85 \cdot 10^{-5}$

in befriedigender Übereinstimmung mit dem berechneten Werte. Wir haben den isoelektrischen Punkt des Albumins somit zum mindesten zwischen die Grenzen

$$[H^{\cdot}] = 0{,}77 \cdot 10^{-5} \text{ und } [H^{\cdot}] = 1{,}0 \cdot 10^{-5}$$

eingeengt und glaubten zunächst, die Anforderungen an noch exaktere Fixierung der Zahlen nicht erhöhen zu können, wenn sich nicht unerwarteterweise ein neuer Weg dazu gezeigt hätte, der es gestattete, die Genaugkeit noch zu vergrößern. Dieser Weg zeigte sich, als wir die Untersuchung auf das gekochte Albumin ausdehnten.

2. Die isoelektrische Reaktion für denaturiertes Albumin.

Die elektrolytfreie Lösung des Albumins wurde zunächst aufgekocht. Es bildete sich eine milchige Trübung, die oft gar nicht zur Koagulation führte. Bei manchen Proben trat bei gründlichem Kochen doch Koagulation ein. Nach Pauli[1])

[1]) Pauli, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 53, 1907.

soll das der Fall sein, wenn das Albumin besonders gründlich dialysiert worden ist. In jedem Fall aber konnten wir bei unserem Präparat, wenn wir nur unmittelbar bis zum Beginn des Siedens erhitzten, die Koagulation vermeiden. Diese Lösung wurde wieder abgekühlt und dieselben Versuche wie mit ungekochtem Albumin angestellt. Es ergab sich:

Tabelle IV.

Denaturiertes Eiweiß.

$\frac{\text{Prim. Phosphat}}{\text{Sek. Phosphat}}$	Konzentration	Anode	Kathode
$\frac{1}{33}$	n/200	+	0
$\frac{1}{33}$	n/200	+	0
$\frac{33}{1}$	n/200	+	0
$\frac{33}{1}$	n/200	+	0
$\frac{33}{1}$	n/21	+	0
$\frac{33}{1}$	n/200	+	0
Reines prim.	n/50	?	?
	n/200	?	?

Tabelle V.

Denaturiertes Eiweiß.

$\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Natriumacetat}}$		Anode	Kathode
$\frac{3}{1}$	n/50	0	+
$\frac{1}{1}$	n/50	0	+
$\frac{1}{2}$	n/50	?	?
$\frac{1}{3}$	n/50	+	0
$\frac{1}{9}$	n/50	+	0

Das Resultat deckt sich also vollkommen mit dem des ungekochten Albumins. Hierbei ist jedoch folgendes zu bemerken. Für den Fall des isoelektrischen Punktes wurde sowohl bei Phosphat- wie bei Acetatgemisch die Untersuchung dadurch

erschwert, daß hierbei, und zwar nur hierbei, das gekochte opaleszente Albumin nach dem Zusatz des Säuregemisches bald flockig koagulierte. Es folgt daraus, daß diejenige Acidität, bei der das denaturierte Albumin am besten koaguliert, mit der isoelektrischen Reaktion zusammenfällt. Im Grunde ist das nicht so überraschend. Denn wenn wir zwar das ungekochte Albumin entschieden zu den hydrophilen Kolloiden rechnen müssen, die eine wirkliche Löslichkeit besitzen und den echt gelösten Substanzen sehr verwandt, in allen wesentlichen Punkten vielleicht gleich sind, so ist das denaturierte Albumin ein typisches Suspensionskolloid[1]), das gar keine eigentliche Löslichkeit besitzt, sondern in Form mikroskopischer oder ultramikroskopischer Teilchen, zum großen Teil vermöge ihrer elektrischen Ladung, in Schwebe gehalten wird. Es entspricht daher völlig den von Bredig entwickelten Anschauungen, wenn diejenige Bedingung, die die elektrische Ladung vernichtet, gleichzeitig die Bedingung für die beste Koagulation darstellt. Nun läßt sich aber der Punkt der optimalen Koagulation mit größerer Genauigkeit bestimmen als der isoelektrische Punkt bei der Überführung, so daß wir auf diese Weise die Grenzen des isoelektrischen Punktes noch mehr einzuengen hoffen durften.

8. Die optimale Acidität für die Koagulation.

Denaturiertes Albumin wurde in wechselnder Menge in verschiedene Phosphat- und Acetatgemische von wechselnder Konzentration eingetragen. Je nach den Bedingungen, aber nur in unmittelbarer Nachbarschaft der isoelektrischen Acidität, trat früher oder später (in $^1/_2$ bis 2 Stunden) Koagulation ein. Innerhalb einer jeden Reihe läßt sich die Bedingung für die optimale Koagulation mit großer Schärfe erkennen; sie erwies sich als unabhängig von der Konzentration des Albumins, von der absoluten Konzentration der Phosphate oder Acetate[2]); sie war nur von der Acidität der Lösung abhängig. Die absolute Geschwindigkeit der Koagulation schwankte; sie war am größten in $^n/_{10}$-Acetat-

[1]) S. darüber: L. Michaelis, Physik. Chemie der Kolloide. Handbuch von Richter-Koranyi 2, 391.

[2]) In dieser Beziehung wurden viel mehr Versuche, als hier protokolliert, unternommen.

mischungen, ein wenig kleiner in $^{n}/_{100}$-Lösungen, auffallenderweise aber auch kleiner in stärkeren Acetatlösungen ($^{n}/_{2}$) und in $^{n}/_{10}$-Lösungen mit Zusatz von NaCl. Der Punkt des Optimums innerhalb einer jeden Reihe wurde aber durch alle diese Änderungen gar nicht beeinflußt. Das Optimum war:

Tabelle III.

A. $\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Natriumacetat}}$ =	$\frac{1}{9}$	$\frac{3}{7}$	$\frac{5}{5}$	$\frac{7}{3}$	$\frac{9}{1}$	Konzentr. d. Gemisches	Menge des Gemisches ccm	Menge der Eiweißlös. ccm
a)		Opt.				$^{n}/_{50}$	5	5
b)		Opt.				$^{n}/_{50}$	5	3
c)		Opt.				$^{n}/_{50}$	5	2
d)		Opt.				$^{n}/_{50}$	10	1
e)		Opt.				$^{n}/_{50}$	10	4
f)		Opt.				$^{n}/_{10}$	5	5

B. $\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Natriumacetat}}$ =	$\frac{3}{6}$	$\frac{3}{7}$	$\frac{3}{8}$	$\frac{3}{9}$	$\frac{3}{10}$	$\frac{3}{11}$			
g)		Opt.					$^{n}/_{50}$	5	5
h)		Opt.					$^{n}/_{10}$	5	5

C. $\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Natriumacetat}}$ =	$\frac{1}{1}$	$\frac{0,9}{1}$	$\frac{0,81}{1}$	$\frac{0,73}{1}$	$\frac{0,66}{1}$	$\frac{0,59}{1}$	$\frac{0,53}{1}$	$\frac{0,48}{1}$	$\frac{0,43}{1}$			
i)									Opt.	$^{n}/_{50}$	1	1
k)									Opt.	$^{n}/_{50}$	10	3
l)									Opt.	$^{n}/_{50}$	10	4

D. $\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Natriumacetat}}$ =	$\frac{3}{6}$	$\frac{3}{6,6}$	$\frac{3}{7,3}$	$\frac{3}{8}$	$\frac{3}{8,9}$			
		Opt.				$^{n}/_{50}$	9–11,9[1])	4
		Opt.				$^{n}/_{50}$	9–11,9	5
		Opt.				$^{n}/_{50}$	9–11,9	3

Die Reihen sind mit verschiedener Feinheit abgestuft; die letzte (D) stellt eine geometrische Reihe dar, bei der jedes Glied nur um $^{1}/_{10}$ des Gesamtwertes größer ist als das vorangehende Glied, und trotzdem ist das Optimum hier scharf auf ein einziges Glied definierbar. Dieses Glied ist

$$\frac{\text{Essigsäure}}{\text{Natriumacetat}} = \frac{3}{6,6}$$

[1]) In diesem Versuch wurde nicht auf gleiches Volumen aufgefüllt.

und entspricht demnach einer H˙-Ionenkonzentration

$$[H^\cdot] = \frac{3}{6{,}6} \cdot 1{,}8 \cdot 10^{-5} = 0{,}82 \cdot 10^{-5}$$

Die Genauigkeit dieser Methode ist auch deshalb noch größer als die der elektrischen Wanderung, weil hierbei keine Manipulationen vorgenommen werden, die die Zusammensetzung des Acetatgemisches ändern könnten. Wir können somit die

isoelektrische Konstante für Rinderserumalbumin bei 18°
$= \mathbf{0{,}82 \cdot 10^{-5}}$

setzen und finden, wenn wir die Dissoziationskonstante des Wassers bei 18° als $0{,}60 \cdot 10^{-14}$ annehmen, die

relative Aciditätskonstante des Rinderserumalbumin bei 18° $= \mathbf{1{,}1 \cdot 10^4}$.

Der prozentische Fehler dieses letzten Wertes hat etwas weitere Grenzen als der des ersten. Denn da diese relative Aciditätskonstante[1])

$$= \frac{[H^\cdot]}{[OH^\cdot]} = \frac{[H^\cdot]^2}{k_w}$$

ist, so quadriert sich der bei der Bestimmung der isoelektrischen Reaktion gemachte Fehler, und zweitens spielt der Fehler wegen der um einige Prozente unsicheren Dissoziationskonstanten des Wassers mit.

Theoretische Schlußbemerkung.

Der Begriff der relativen Acidität und des isoelektrischen Punktes ist aus dem Massenwirkungsgesetz abgeleitet, kann also zunächst nur für ungekochtes Albumin gelten, das kein Suspensionskolloid ist. Es ist deshalb auffällig, daß die Ableitung scheinbar auch für denaturiertes Albumin gilt. Nun ist aber folgendes zu bedenken. Im allgemeinen ist es nicht erwiesen, daß die Ladung des gelösten Albumins unter gleichen Bedingungen ebenso groß wie die des suspendierten Albumins ist; es ist nur erwiesen, daß die Bedingungen für den Nullwert der Ladung die gleichen sind und daß, vom Nullpunkt aus betrachtet, gleiche Bedingungsänderungen die Ladung von ungekochtem und denaturiertem Eiweiß in gleichem Sinne ändern. Die Erklärung dafür ist darin zu suchen, daß die Ursache für die elektrische Ladung des gelösten und suspendierten Albu-

---

[1]) L. Michaelis, diese Zeitschr. 19, 182, 1909.

mins die gleiche ist, nämlich das Bestreben, H˙- und OH′-Ionen abzudissoziieren.[1]) Daher kommt es, daß für die Größe der Ladung die Konzentration der H˙- und OH′-Ionen in der Lösung von ausschlaggebender Bedeutung ist, und daß dieselbe Aciditätsbedingung, die für gelöstes Albumin ein Minimum an Ionen insgesamt, und eine Gleichheit in der Menge der positiven und negativen Eiweißionen hervorruft, für suspendiertes Albumin eine Gleichheit in dem Bestreben, H˙- wie OH′-Ionen abzudissozieren, erzeugt und damit die Potentialdifferenz der suspendierten Teilchen gegen die flüssige Phase gleich Null macht.

---

[1]) Billitzer (jetzt Billiter), Zeitschr. f. physikal. Chem. 45, 307, 1903; 51, 129, 1905; L. Michaelis, Handbuch von Korányi-Richter, 2, 375ff., 1908.

Über Ionenkonzentrationen in Organflüssigkeiten.

I. Mitteilung.

Die Wasserstoff- und Hydroxylionenkonzentrationen des Placentar- und Retroplacentarserums.

Von

Walther Löb und Shigeji Higuchi.

(Aus der chemischen Abteilung des Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

(Eingegangen am 6. Januar 1910.)

Die physikalische Chemie hat nach zwei Richtungen hin befruchtend auf die biologischen Wissenschaften gewirkt. Einmal hat sie durch die Anwendung neuer Gesichtspunkte bisher wenig oder gar nicht beachtete Seiten alter Probleme aufgedeckt, häufig eine neue und präzise Problemstellung erst ermöglicht und die Bedeutung der physikalisch-chemischen Vorgänge für die Lebensprozesse erwiesen. Dieser theoretische Nutzen ist ein bleibender und fortschreitender. Dann hat sie weiter der biologischen Forschung eine Reihe bequemer und genauer Untersuchungsmethoden zur Verfügung gestellt, die sich für die experimentelle Bearbeitung und praktische Verwertung von großem Nutzen erwiesen haben.

In erster Linie stehen hier die Methoden zur Bestimmung des osmotischen Druckes, des Dissoziationsgrades der Elektrolyte und der Ionenkonzentrationen in Flüssigkeiten. Während sich die beiden ersteren in Form kryoskopischer Messungen und der Leitfähigkeitsermittelungen in biologischen und klinischen Laboratorien eingebürgert haben, kann man ein gleiches von der Feststellung der Ionenkonzentrationen, für die das elektrometrische und titrimetrische Verfahren zur Verfügung stehen,

nicht sagen, obgleich schon eine ganze Anzahl verdienstvoller Untersuchungen vorliegt.

Diese Sachlage bestimmte vor längerer Zeit den einen von uns, das elektrometrische Verfahren zur Ermittelung der Ionenkonzentrationen in einer möglichst einfachen Form für klinische Zwecke in Angriff zu nehmen, und zwar in der Weise, daß zunächst für normale Organflüssigkeiten die physikalisch-chemischen Konstanten in größerem Umfange aufgestellt, sodann die Abweichungen für pathologische Verhältnisse beobachtet werden sollten, um die Daten, wenn möglich, mehr in den Dienst der Diagnostik zu stellen, als es bisher der Fall ist. Der gleichen Aufgabe dienen bereits mehrere frühere Arbeiten, auf die wir, soweit sie unser spezielles Thema berühren, noch zurückkommen werden.

Bei der gemeinsamen experimentellen Bearbeitung des Themas lenkte das Spezialgebiet des ärztlichen Mitarbeiters (Higuchi) unser Interesse auf den Vergleich der Ionenkonzentrationen im kindlichen und mütterlichen Blut und im Fruchtwasser unter normalen und pathologischen Bedingungen.

Bevor wir auf die bereits ausgeführten Untersuchungen, auf unsere Methoden und Resultate eingehen, möchten wir hervorheben, daß unmittelbar nach Beginn unserer Arbeit die ausgezeichneten Untersuchungen Sörensens[1]) über die Wasserstoffionenkonzentrationen bei Enzymreaktionen erschienen. Seine Ergebnisse sind für uns nach verschiedenen Seiten bedeutungsvoll geworden. Die äußerst sorgfältige experimentelle Grundlage seiner Resultate, die mit den unserer Messungen in den vergleichbaren Fällen gut übereinstimmen, bewog uns, mehrere seiner Vorschläge anzunehmen. So haben wir seinen Wert für die Dissoziationskonstante des Wassers unseren Berechnungen zugrunde gelegt und wie er, dem Vorschlage Bjerrums[2]) folgend, die Diffusionspotentiale durch Messung verschieden konzentrierter Kaliumchloridlösungen durch Extrapolation ausgeschaltet. Ferner hielten wir es für richtig, um eine möglichst einfache Bezeichnungsweise in diesem Gebiete zu erhalten, die recht zweckmäßigen Ausdrucksformen für die Ionenkonzen-

---

[1]) Diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

[2]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 53, 428, 1905.

trationen von Sörensen zu benutzen, daneben freilich zum Vergleich mit früheren Arbeiten die bis dahin üblichen Konzentrationsmaße anzuführen.

Theoretischer Teil.

Da die theoretische Grundlage der elektrometrischen Methode zur Bestimmung der Ionenkonzentrationen genügend oft erörtert ist, können wir uns hier ganz kurz fassen.

Bezeichnen wir nach Sörensen mit π_p die elektromotorische Kraft einer Kette, gebildet aus einer Platin-Wasserstoffelektrode in Salzsäure mit der Wasserstoffionenkonzentration C_p und einer Quecksilber-Kalomelelektrode in einer 0,1 n-KCl-Lösung, mit π_o die elektromotorische Kraft einer gleichen Kette, in der die Salzsäure bezüglich der Wasserstoffionen normal ist, so wird bekanntlich:

$$\pi_o = \pi_p - 0{,}0577 \log \frac{1}{C_p}.$$

Der Wert von π_o ist von Sörensen im Mittel zu 0,3377 Volt, von uns im Mittel zu 0,3351 Volt bestimmt worden. Wir benutzen unseren Wert zur weiteren Berechnung, ohne ihm den Vorzug vor dem Sörensenschen geben zu wollen. Vielmehr glauben wir, für den Unterschied unsere einfachere Versuchsanordnung verantwortlich machen zu dürfen.

Wir führen die experimentellen Daten, die unseren Wert begründen, schon hier an und bemerken, daß die Salzsäurelösungen auf eine sorgfältigst aus umkrystallisierter Säure hergestellte 0,1 n-Oxalsäurelösung eingestellt waren. Die Dissoziationsgrade wurden durch Leitfähigkeitsbestimmungen gegen 0,001 n-Salzsäure ermittelt; sie weichen von den Sörensenschen Werten, die mit Benutzung der Kohlrauschschen Normalwerte für Salzsäure gefunden waren, etwas ab. Auch hier wählten wir unsere Daten, da wir es für zweckmäßig hielten, alle vorkommenden experimentellen Daten mit den üblichen Laboratoriumsapparaten selbst zu bestimmen, um die Bedeutung der Fehler bei unserer einfachen Versuchsanordnung kennen zu lernen. Es zeigte sich, wie hier vorweg genommen werden mag, daß diese Fehler in keiner Weise die Eindeutigkeit und Reproduzierbarkeit der Resultate zu stören vermögen, und daß

die Übereinstimmung der Daten unter sich und mit den auf genauerem Wege ermittelten durchgängig eine durchaus befriedigende ist.

Bezüglich der Elimination der Diffusionspotentiale mittels Feststellung der elektromotorischen Kräfte unter Einschaltung einer 1,75 n- und 3,5 n-KCl-Lösung nach dem Vorschlag Bjerrums sei auf die Ausführungen von Sörensen verwiesen. Die Unterschiede liegen stets in Tausendstel Volt und dürfen bei genaueren Messungen nicht vernachlässigt werden. Da aber bei klinischen Fragen meist Vergleichswerte zu berücksichtigen sind und die absoluten Werte weniger Bedeutung besitzen, so wird auch die Ermittlung der Diffusionspotentiale meist umgangen werden können, wenn nur die Versuchsbedingungen als konstante festgelegt werden. Bei einer klinischen Anwendung wird die Präzisierung der letzteren zweckmäßig Sache einer allgemeinen Verabredung sein.

Wir geben die folgende Tabelle in der von Sörensen benutzten Anordnung und mit seinen Bezeichnungen. Die drei mitgeteilten Versuchsreihen sind zu sehr verschiedenen Zeiten — vor Beginn der Untersuchung, während derselben und kurz vor ihrem Abschluß — mit stets aufs neue eingestellter Salzsäure ausgeführt worden.

Tabelle I.

Ermittlung von π_0.

Konzentration der HCl	H˙-Konzentration C_H	$0{,}0577 \log \frac{1}{C_H}$	π (1,75 n-KCl)	π (3,5 n-KCl)	π (extrapoliert)	$\pi_0 = \pi - 0{,}05.7 \times \log \frac{1}{C_H}$
0,01 n-	0,0099	0,1157	0,4667	0,4601	0,4535	0,3378
0,1 „	0,0911	0,0600	0,4063	0,4014	0,3965	0,3365
1 „	0,6786	0,0097	0,3590	0,3524	0,3458	0,3361
0,01 „	0,0099	0,1157	0,4620	0,4570	0,4520	0,3363
0,1 „	0,0911	0,0600	0,4024	0,3974	0,3924	0,3324
1 „	0,6786	0,0097	0,3543	0,3494	0,3445	0,3348
0,01 „	0,0099	0,1157	0,4632	0,4566	0,4500	0,3343
0,1 „	0,0911	0,0600	0,4041	0,3991	0,3941	0,3341
1 „	0,6786	0,0097	0,3531	0,3482	0,3433	0,3336
					Mittelwert:	0,3351

Zur Berechnung der Wasserstoffionenkonzentration C_p erhalten wir also die Formel:

$$\pi_p = 0{,}3351 + 0{,}0577 \log \frac{1}{C_p}.$$

C_p, die Zahl der Grammionen Wasserstoff im Liter, kann gleich 10^{-p} gesetzt werden. Für die Zahl p schlägt Sörensen den Namen „Wasserstoffionenexponent" und die Bezeichnungsweise $p_{H^\cdot}$ vor. Je größer der absolute Wert von $p_{H^\cdot}$ ist, desto kleiner ist also die $H^\cdot$-Konzentration.

Es ist demnach in unserm Falle:

$$\log \frac{1}{C_p} = \log \frac{1}{10^{-p}} = p_{H^\cdot} = \frac{\pi_p - 0{,}3351}{0{,}0577}.$$

Zum Vergleich mit anderen Werten haben wir außer $p_{H^\cdot}$ auch stets die Werte für 10^{-p} angegeben, wobei wir p den für die fraglichen Größenordnungen geeigneten und meist benutzten Wert 7 gaben. Wir setzen mithin:

$$C_p = x \cdot 10^{-7} = 10^{-p_{H^\cdot}}.$$

Aus dem Wasserstoffionengehalt den der Hydroxylionen für dieselbe Lösung zu erhalten, gestattet die Konstanz des Produktes $C_{H^\cdot} \times C_{OH'}$. Dieses Produkt, die Dissoziationskonstante des reinen Wassers, ist schon mehrfach bestimmt worden. Die Daten schwanken für 18° von $0{,}46 \times 10^{-14}$ bis $0{,}74 \times 10^{-14}$.[1]) Die Neubestimmung von Sörensen ist so sorgfältig ausgeführt worden, daß wir kein Bedenken trugen, den von ihm ermittelten Wert:

$$C_{H^\cdot} \times C_{OH'} = 0{,}72 \times 10^{-14} = 10^{-14 \cdot 14}$$

unseren weiteren Berechnungen zugrunde zu legen. War bei 18°

$$C_{H^\cdot} = x \cdot 10^{-7},$$

so ist also

$$C_{OH'} = \frac{0{,}72}{x} 10^{-7},$$

oder, falls $C_{H^\cdot} = 10^{-p_{H^\cdot}}$ gesetzt wird,

$$C_{OH'} = \frac{10^{-14 \cdot 14}}{10^{-p_{H^\cdot}}} = 10^{-(14 \cdot 14 - p_{H^\cdot})}$$

Experimenteller Teil.

Methodisches.

Die Versuche wurden bei Zimmertemperatur, die möglichst auf 18° bis 19° gehalten wurde, ohne Hilfe eines Thermostaten ausgeführt. Wir benutzten eine $^1/_{10}$n-KCl-Elektrode (Queck-

[1]) Genaueres bei Sörensen, l. c. S. 165.

silber-Kalomelelektrode) nach Ostwald in der gewöhnlichen Ausführung und als „Gaselektrode", welche die Untersuchungsflüssigkeit aufnahm, die von Ostwald-Dolezalek[1]) angegebenen Gefäße mit den nach Luther-Brislee[2]) auf Glas aufgebrannten Platinelektroden, deren sorgfältig hergestellte Platinierung von Zeit zu Zeit erneuert wurde. Die Heberenden der Normal- und Gaselektrode tauchten in ein Standglas mit 1,75 n- bzw. 3,5 n-KCl-Lösung.

Der Wasserstoff, der die Gaselektrode und die Flüssigkeit durchströmte, wurde elektrolytisch entwickelt und durchstrich vor seinem Eintritt in das Elektrodengefäß zwei Waschflaschen mit alkalischer Pyrogallussäurelösung, eine Waschflasche mit Wasser, ein mit Watte gefülltes Rohr und schließlich ein U-Rohr mit Chlorcalcium.

Der Wasserstoffdurchleitung mußte bei der Anwendung von Serum nach Fränkels[3]) und Höbers[4]) Versuchen besondere Aufmerksamkeit zugewandt werden. Fränkel hatte geschlossen, daß die Wasserstoffdurchleitung bei Blut überhaupt vermieden werden müsse, da durch Fortführen der Kohlensäure die Werte nach der Seite zunehmender Alkalität verschoben würden. Er empfiehlt für die Blutmessungen mit Wasserstoff beladene Palladiumelektroden, bei denen die Gasdurchströmung entbehrlich wird.

Wir haben uns trotz dieser Bedenken zur Wasserstoffdurchleitung entschlossen, weil es gelingt, die Kohlensäure verhältnismäßig schnell durch den Gasstrom bis zu einem konstanten Endwert zu entfernen, während der ursprüngliche Kohlensäuregehalt des dem Organismus entnommenen Blutes ein schwankender und unkontrollierbarer ist. Daß die von Farkas[5]) benutzte Sauerstoffdurchleitung zur Ermittlung der theoretisch natürlich ebenso brauchbaren OH'-Konzentration Übelstände hat, ist schon mehrfach hervorgehoben worden. Auch bemerkt Farkas selbst, daß bei längerem Durchströmen des Sauerstoffs die OH'-Konzentration des Blutes steigt.

---

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 35, 291, 1901.

[2]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 45, 222, 1903.

[3]) Pflügers Archiv 96, 601, 1903.

[4]) Physik. Chemie der Zelle, 2. Aufl., S. 153, Leipzig 1906.

[5]) Pflügers Archiv 98, 551, 1903.

Vor allem hat Höber[1]) den Einfluß des Kohlensäuregehaltes und seiner Entfernung durch Wasserstoff untersucht. Bei andauernder Durchströmung des Blutes mit Wasserstoff wird die normal im Blut enthaltene Kohlensäure ausgetrieben und daher der natürliche Wert gefälscht. Höber hat den Einfluß der Beimengung von Kohlensäure zum Wasserstoff auf die $H^{\cdot}$-Konzentration quantitativ verfolgt und gefunden, daß letztere bei reinem Wasserstoff $0{,}012 - 0{,}028 \times 10^{-7}$, in Gegenwart von z. B. 15,5 Vol.-$^0/_0$ CO_2 aber bereits $0{,}94 \times 10^{-7}$ im Blute beträgt. Da es uns, wie bereits erwähnt, nur auf konstante Endwerte ankommen konnte, so ergab sich auch aus Höbers Ergebnissen für uns die Notwendigkeit der Wasserstoffdurchleitung. Dieselbe ließen wir stets so lange erfolgen, bis sich der Potentialwert nicht mehr änderte. Die Vorschriften über die Dauer der Wasserstoffdurchleitung lauten verschieden. Wir haben in zahlreichen Versuchen gefunden, daß nach vollständiger Beladung der Elektrode und des Serums mit Wasserstoff, wozu durchschnittlich 2 Stunden ausreichen, durchaus konstante Werte erhalten werden, die sich auch bei längerem Durchleiten des Wasserstoffs nicht ändern. Das unbequeme Schäumen des Serums haben wir mit in Kauf genommen, um nicht durch die von Höber[2]) vorgeschlagene Ölschicht ein vielleicht nicht ganz indifferentes Moment in die Versuchsanordnung zu bringen.

Während der Messung wurde der Wasserstoffstrom abgestellt und der Luftzutritt zur Untersuchungsflüssigkeit durch einen Flüssigkeitsverschluß und Abschluß mit Klemmen verhindert.

Als Stromquelle für die Messungen benutzten wir einen kleinen Akkumulator, dessen elektromotorische Kraft vor jeder Messungsreihe gegen ein Weston-Element ausgewertet wurde. Die elektromotorische Kraft des letzteren ist

$$\pi_w = 1{,}0183 - 0{,}0004(t^0 - 20).$$

Die Kompensation fand in der üblichen Weise mittels Gleitkontaktes auf einem 60 cm langen, über eine Millimeterteilung gespannten Platiniridiumdraht statt. Als Nullinstru-

---

[1]) Vgl. auch Pflügers Archiv 81, 522, 1900; 99, 572, 1903.

[2]) Pflügers Archiv 99, 572, 1903.

ment diente uns ein Paschensches Galvanoskop, dessen Empfindlichkeit pro Skalenteil Ausschlag etwa 2×10^{-8} Ampere betrug.[1])

Auf Grund mehrjähriger Erfahrungen des einen von uns geben wir bei der Anwendung der Methode durch in physikalisch-chemischen Messungen nicht routinierte Arbeiter, mit denen für klinische Untersuchungen meist zu rechnen ist, dem Galvanoskop den Vorzug vor dem Capillarelektrometer. Die Beobachtung der Zeigerstellung auf dem Skalenfelde des Galvanometers geschah mit Hilfe einer Lupe.

Als Nullstellung des Gleitkontaktes wählten wir den Mittelwert derjenigen Stellungen, bei denen gerade noch eine sichtbare Ablenkung der Galvanometernadel nach rechts bzw. nach links stattfand. Das Intervall für eine anscheinende Ruhelage der Nadel betrug auf dem Meßdraht durchschnittlich 2 mm, so daß der wahrscheinliche Fehler etwa 1 mm betragen dürfte. Bei den für unsere Messungen vorkommenden Stellungen des Gleitkontaktes bei Kompensation (210 bis 250 mm) entspricht einer Verschiebung von 1 mm einer Potentialdifferenz von 0,0003 — 0,001 Volt. Ein Unterschied aber von 5 Millivolt innerhalb der von uns gemessenen elektromotorischen Kräfte (0,75 bis 0,85 Volt) der Gasketten verursacht, wie eine einfache Rechnung lehrt, nur eine Verschiebung der zweiten Dezimalstelle der Wasserstoffionenexponenten. Die Unsicherheit, die derselben anhaftet, berührt aber die Eindeutigkeit der Resultate nicht, wie ein Blick auf Tabelle IV zeigt, in der die höhere Alkalescenz des Retroplacentarserums in jedem Falle bereits in der ersten Dezimale scharf zum Ausdruck kommt. Die Genauigkeit der bequemen Galvanoskopbeobachtung ist also für unsere Zwecke eine ausreichende.

Die ganze Apparatur befand sich auf einem mit glasierten Tonplatten belegten Tische, wodurch eine genügende Isolierung gewährleistet war.

Die Blutgewinnung bedurfte besonderer Vorsichtsmaßregeln. Es zeigte sich, daß die Bearbeitung der Placenta unmittelbar nach der Geburt vorgenommen werden muß. Wartet man auch nur $^1/_2$ Stunde, so ist das Serum trübe gefärbt und zeigt

[1]) Sämtliche bei dieser Untersuchung benutzten Apparate stammen aus der mechanischen Werkstatt von Fritz Köhler in Leipzig.

höhere Werte für die Wasserstoffionenkonzentration als das frisch gewonnene Blut.

Das Placentarblut wurde in folgender Weise vorbereitet. Nach Abklemmung der Nabelschnur wurde die Placenta enthäutet, durch Abtupfen mit trockenem Mull von Schleim- und Fetteilchen befreit, die Nabelschnur unmittelbar an der Placenta abgeschnitten, während letztere über einen weithalsigen, zum Zentrifugiergefäß führenden Trichter gehalten wurde. Sodann wurde das Blut durch vorsichtiges Abstreichen der in der Placentaoberfläche sichtbaren Blutgefäße entleert und Sorge dafür getragen, daß kein Retroplacentarblut mit in das Gefäß gelangte. Das abgelassene Blut wurde sodann 10 Minuten zentrifugiert (3000 Umdrehungen pro Minute); das klare, gelblichrot gefärbte Serum kam sofort zur Messung.

Das retroplacentare Hämatom ließen wir bei der Geburt direkt in sterilen Gefäßen auffangen; es wurde — meist in geronnenem Zustande — zentrifugiert. Das Serum war stets klar und leicht gelb gefärbt.

Das Fruchtwasser, das nur in vereinzelten Fällen zur Messung gelangen konnte, wurde von sachkundiger Hand[1]) durch Einstechen der Blase mittels besonders konstruierten Katheters gewonnen. Es wurde filtriert und lieferte nach dem Zentrifugieren eine wasserklare Flüssigkeit.

Ergebnisse.

Über das in der Überschrift genannte Thema liegen einige Arbeiten vor.

Farkas und Scipiades[2]) haben die molekularen Konzentrationsverhältnisse des Blutserums der Schwangeren, Kreißenden und Wöchnerinnen und des Fruchtwassers festgestellt. Sie ermittelten die Leitfähigkeiten und durch Messung der elektromotorischen Kräfte die OH'-Konzentrationen. Sie fanden die

---

[1]) Herrn Dr. Gutzmann, Assistenten an der gynäkologischen Abteilung des Virchow-Krankenhauses, sind wir für seine bereitwillige Unterstützung zu Dank verpflichtet. Ebenso danken wir auch an dieser Stelle dem dirigierenden Arzt der gynäkologischen Abteilung, Herrn Prof. Koblanck, für die freundliche Überlassung des für unsere Untersuchungen erforderlichen Materials.

[2]) Pflügers Archiv 98, 577, 1903.

letzteren hier, wie im menschlichen Blute überhaupt, annähernd der neutralen Reaktion entsprechend.

Das Fruchtwasser ist nach ihren Untersuchungen eine in Spuren Eiweiß enthaltende, gegenüber dem Blut hypotonische Lösung, kein einfaches Transsudat des Blutes. Während sie die OH'-Konzentration im Blute der Kreißenden zu $0{,}2 - 1{,}9 \times 10^{-7}$ fanden, hat Pfaundler[1]) bei dem kindlichen Blute eine Zunahme der OH'-Konzentration von $0{,}23 \times 10^{-7}$ (3 Stunden nach der Geburt) bis $0{,}78 \times 10^{-7}$ (2 Monate nach der Geburt) beobachtet.

Szili[2]) untersuchte die OH'-Konzentration des placentaren Blutes in den von Farkas[3]) angewandten, nach einem von Bugarszky[4]) vorgeschlagenen Prinzip angeordneten Gasketten; meist in der Form:

H | 0,01 n-HCl in $^1/_8$ n-NaCl | $^1/_8$ n-NaCl | Serum | H.

Aus seinen Untersuchungen ergibt sich, daß die OH'-Konzentration des Placentarblutes von 0,64 bis $2{,}13 \times 10^{-7}$ schwankt; der Mittelwert ist $1{,}5 \times 10^{-7}$, also von der Größenordnung der OH'-Konzentration in destilliertem Wasser. Auch er macht die Beobachtung, daß längeres Durchleiten von Sauerstoff die OH'-Konzentration zu steigern vermag und über den ursprünglichen OH'-Gehalt des Serums täuschen kann. Nach den Ergebnissen von Farkas und Höber gelten die für das Serum gefundenen Werte auch für das Blut, da beider OH'-Konzentrationen nur unwesentlich voneinander differieren. Auf einzelne der von den genannten Autoren ermittelten Werte kommen wir gleich zurück.

Die Resultate unserer Versuche haben wir in den folgenden Tabellen übersichtlich zusammengestellt. Wir ermittelten außer den Ionenkonzentrationen in jedem einzelnen Falle die Gefrierpunktserniedrigung, um über die molekularen Konzentrationen einige Aufklärung zu erhalten. Die Werte weisen keine besondere Konstanz auf; sie sind für das Placentarserum fast stets größer als für das zugehörige Retroplacentarserum (vgl. Tabelle IV).

---

[1]) Arch. f. Kinderheilk. 41, 161, 1905.
[2]) Pflügers Archiv 115, 72, 1906.
[3]) Pflügers Archiv 98, 551, 1903.
[4]) Zeitschr. f. anorgan. Chem. 14, 145, 1896.

Tabelle II.

Normales Placentarserum.

Nr.	Name	Alter	Zahl der Geburten	π (1,75n-KCl)	π (3,5 n-KCl)	π (extrapoliert)	p_H	$k_H \times 10^{-7}$	$k_{OH} \times 10^{-7}$	Versuchstemp. Grad	$\triangle$
1	Gegner	30	I	0,7613	0,7677	0,7741	7,61	0,25	2,89	18	0,550
2	Schubert	19	I	0,7759	0,7812	0,7865	7,82	0,15	4,80	19	0,570
3	Annecke	20	I	0,7587	0,7637	0,7680	7,50	0,31	2,32	18,5	0,560
4	Hermann	33	IV	0,7595	0,7662	0,7729	7,59	0,26	2,77	18	0,580
5	Dix	19	I	0,7696	0,7746	0,7796	7,70	0,20	3,60	19	0,585
6	Krause	30	XI	0,7563	0,7629	0,7695	7,53	0,30	2,40	18	—
7	Fricke	25	II	0,7733	0,7799	0,7865	7,82	0,15	4,80	19	0,600
8	Schlömer	22	II	0,7633	0,7683	0,7733	7,59	0,25	2,89	17,5	0,580
9	Tatzig	20	I	0,7613	0,7646	0,7679	7,50	0,31	2,32	18	0,600
10	Zunke	27	III	0,7687	0,7769	0,7851	7,80	0,16	4,50	18	0,580
11	Stiller	28	I	0,7621	0,7720	0,7819	7,74	0,18	4,00	17	0,570
12	Rowald	26	I	0,7662	0,7711	0,7760	7,64	0,23	3,12	18	0,550
13	Michalski	23	II	0,7670	0,7703	0,7730	7,60	0,25	2,89	18	0,560
14	Böse	23	I	0,7703	0,7752	0,7801	7,71	0,19	3,95	17	0,560
15	Mennicke	20	I	0,7654	0,7703	0,7752	7,63	0,24	3,00	17,5	0,570
						Mittelwerte:	7,65	0,23	3,13		0,573

Tabelle III.

Normales Retroplacentarserum.

Nr.	Name	π (1,75n-KCl)	π (3,5 n-KCl)	π (extrapoliert)	p_H	$k_H \times 10^{-7}$	$k_{OH} \times 10^{-7}$	Versuchstemp. Grad	$\triangle$
1	Gegner	0,7805	0,7837	0,7869	7,83	0,15	4,80	18	0,530
2	Schubert	0,7847	0,7916	0,7985	8,07	0,08	9,00	19	0,540
3	Annecke	0,7737	0,7820	0,7907	7,90	0,13	5,62	18,5	0,580
4	Hermann	0,7829	0,7913	0,7997	8,05	0,09	8,00	18	0,590
5	Dix	0,7863	0,7929	0,7995	8,05	0,09	8,00	19	0,540
6	Krause	0,7861	0,7828	0,7995	8,05	0,09	8,00	18	0,545
7	Fricke	0,7882	0,7964	0,8046	8,14	0,07	10,00	19	0,530
8	Schlömer	0,7865	0,7898	0,7931	7,94	0,12	6,00	17,5	0,550
9	Tatzig	0,7876	0,7926	0,7976	8,02	0,10	7,20	18	0,590
10	Zunke	0,7917	0,7950	0,7983	8,03	0,09	8,00	18	0,550
11	Stiller	0,7802	0,7851	0,7900	7,88	0,13	5,62	17	0,550
12	Rowald	0,7760	0,7826	0,7892	7,87	0,13	5,62	18	0,530
13	Michalski	0,7866	0,7899	0,7932	7,94	0,12	6,00	18	0,530
14	Böse	0,7817	0,7850	0,7883	7,85	0,14	5,14	17	0,520
15	Mennicke	0,7801	0,7833	0,7865	7,82	0,15	4,80	17,5	0,540
				Mittelwerte:	7,96	0,11	6,60		0,547

Bei den Werten aus Tabelle II und III ist zu berücksichtigen, daß sie sich nicht auf das physiologische Blut er-

Tabelle IV.

Vergleich der Ionenkonzentrationen des Placentar- und Retroplacentarserums.

Versuchsnummern nach Tabelle II und III	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Mittel
Placentarserum . . p_H:	7,61	7,82	7,50	7,59	7,70	7,53	7,82	7,59	7,50	7,80	7,74	7,64	7,60	7,71	7,63	7,65
Retroplacentarserum . . p_H:	7,83	8,07	7,90	8,05	8,05	8,05	8,14	7,94	8,02	8,03	7,88	7,87	7,94	7,85	7,82	7,96
Placentarserum . . k_H:	0,25	0,15	0,31	0,26	0,20	0,30	0,15	0,25	0,31	0,16	0,18	0,23	0,25	0,19	0,24	0,23
Retroplacentarserum . . k_H:	0,15	0,08	0,13	0,09	0,09	0,09	0,07	0,12	0,10	0,09	0,13	0,13	0,12	0,14	0,15	0,11
Placentarserum . . k_{OH}:	2,89	4,80	2,32	2,77	3,60	2,40	4,80	2,89	2,32	4,50	4,00	3,12	2,89	3,95	3,00	3,13
Retroplacentarserum . . k_{OH}:	4,80	9,00	5,62	8,00	8,00	8,00	10,00	6,00	7,20	8,00	5,62	5,62	6,00	5,14	4,80	6,60
Placentarserum . . $\triangle$:	0,55	0,57	0,56	0,58	0,585	—	0,60	0,58	0,60	0,58	0,57	0,55	0,56	0,56	0,57	0,573
Retroplacentarserum . . $\triangle$:	0,53	0,54	0,58	0,59	0,54	0,545	0,53	0,55	0,59	0,55	0,55	0,53	0,53	0,52	0,54	0,547

strecken, sondern auf das durch dauernde Wasserstoffdurchströmung von Kohlensäure möglichst befreite. Da nach den schon erwähnten Feststellungen Höbers durch die Kohlensäureentfernung im Serum die $H^{\cdot}$-Konzentration sinkt, die OH'-Konzentration steigt, so haben wir in allen Fällen ausgeprägt alkalische Flüssigkeiten, wenn auch die Höhe der Werte in der Größenordnung der Wasserdissoziation bleibt. Immerhin gelingt es, an empfindlichem Lackmuspapier die alkalische Reaktion an dem Farbenumschlag des Indicators zu bemerken. Gegen Phenolphthalein sind die Sera neutral. Dieses verschiedene Verhalten der Sera gegen die beiden Indicatoren ist ohne weiteres verständlich.

Lackmus besitzt nach Sörensens[1]) Angaben den Umschlagspunkt bei einer $H^{\cdot}$-Konzentration von $p_{H^{\cdot}} = 4{,}4 - 6{,}2$, während Phenolphthalein erst bei $p_{H^{\cdot}} = 8{,}3 - 10{,}0$ anspricht, d. h. bei einer höheren OH'-Konzentration, als durchgängig in unseren Versuchen vorkam.

Wir haben in Tabelle IV die einzelnen Werte der Ionenkonzentrationen in dem Placentar- und dem zugehörigen Retroplacentarserum für die einzelnen Fälle zusammengestellt. In jedem Fall ist die höhere Alkalität des letzteren deutlich ausgeprägt.

Von normalem Fruchtwasser gelangten nur drei Fälle zur Messung. Ohne aus den Werten einen Schluß zu ziehen, geben wir die beobachteten Zahlen in Tabelle V. Das Fruchtwasser ist eine schwach, aber merklich alkalische Flüssigkeit von offenbar stark schwankenden Konzentrationsverhältnissen, wie die Werte für △ zeigen.

Tabelle V.

Normales Fruchtwasser.

Nr.	Name	Alter	Zahl der Geburten	π (1,75n-KCl	π (3,5 n-KCl	π (extrapoliert)	p_H	$k_H \times 10^{-7}$ k_H	$k_{OH} \times 10^{-7}$ k_{OH}	Versuchstemp. Grad	△
7	Fricke	25	II	0,7964	0,8030	0,8096	8 22	0,06	12,0	19	0,555
15	Mennicke	20	I	0,7922	0,7971	0,8020	8,10	0,08	9,0	17,5	0,470
16	Stensel	25	II	0,7948	0,7997	0,8046	8,14	0,07	10,3	18	0,530
						Mittelwerte	8,15	0,07	10,3		

[1]) Diese Zeitschr. 21, 253, 1909.

Die geringe Anzahl der bisher untersuchten pathologischen Fälle ist noch nicht annähernd ausreichend, um diagnostisch verwertbare Schlüsse zu ziehen. Wir begnügen uns mit der Mitteilung des Materials.

Tabelle VI.

Pathologische Fälle.

Placentarserum.

Nr.	Name	Alter	Zahl der Geburten	Krankheit	π (1,75n-KCl	π (3,5n-KCl	π (extrapoliert)	p_H	$k_H \times 10^{-7}$ / h_H	$k_{OH} \times 10^{-7}$ / k_{OH}	Versuchstemp. Grad	△
1	Gottschalk	41	XVI	Eklampsie	0,7729	0,7779	0,7829	7,76	0,17	4,23	19	0,610
2	Engel	25	I	Eklampsie	0,7716	0,7749	0,7782	7,70	0,21	3,41	17,5	0,600
3	Parey	25	II	Nephritis[1])	0,7580	0,7629	0,7678	7,50	0,32	2,25	19,5	0,550
4	Wulf	40	VI	Epilepsie[2])	0,7621	0,7654	0,7687	7,51	0,31	2,32	18	0,590
				Retroplacentarserum.								
2	Engel	25	I	Eklampsie	0,7931	0,7964	0,7997	8,05	0,089	8,09	17,5	0,585
3	Parey	25	II	Nephritis	0,7875	0,7908	0,7941	7,95	0,11	6,55	19,5	0,550
4	Wulf	40	VI	Epilepsie	0,7897	0,7929	0,7961	7,99	0,10	7,20	18	0,550
				Fruchtwasser.								
4	Wulf	40	VI	Epilepsie	0,8010	0,8060	0,8110	8,25	0,056	12,86	18	0,500

Tabelle VII.

Untersuchungsflüssigkeit	Beobachter	$k_H \times 10^{-7}$ / k_H	$k_{OH} \times 10^{-7}$ / k_{OH}	△	Bemerkungen
Norm. Placentarserum	Szili	0,34	2,1	—	Als Dissoziationskonstante des Wassers ist für alle Versuche $0,72 \times 10^{-14}$ angenommen.
Norm. Placentarserum	Löb und Higuchi	0,23	3,13	0,573	
Norm. Retroplacentarser.	Farkas u. Scipiades	0,637	1,13	0,540	Blut Kreißender benutzt.
Norm. Retroplacentarser.	Löb und Higuchi	0,11	6,54	0,547	
Norm. Fruchtwasser	Farkas u. Scipiades	0,8	0,9	0,452—0,507	
Norm. Fruchtwasser	Löb und Higuchi	0,071	10,28	0,470—0,555	

---

[1]) Geburt normal.

[2]) In der letzten Woche der Schwangerschaft ohne Anfall. Kein Eiweiß im Urin.

In Tabelle VII haben wir schließlich die von andern Beobachtern gefundenen Mittelwerte mit den von uns ermittelten zusammengestellt. Unsere Zahlen geben stets die höhere Alkalität. Der Grund hierfür liegt zweifellos in der längeren Vorbehandlung mit Wasserstoff und der hierdurch bewirkten Entfernung der Kohlensäure.

Von pathologischen Fällen bietet nur die Beobachtung von Farkas und Scipiades über Eklampsie Vergleichspunkte. Sie fanden in dem Blute einer Eklamptischen während der Erkrankung die OH'-Konzentration $0,4 \times 10^{-7}$, nach der Heilung $1,2 \times 10^{-7}$ gegenüber unserem Werte von $0,089 \times 10^{-7}$ im Retroplacentarserum bei Eklampsie. Auch hier ist unser Wert der weitaus alkalischere. Die von uns gefundene Gefrierpunktserniedrigung $\triangle = 0,585$ liegt nahe der von Farkas und Scipiades beobachteten $\triangle = 0,573$.

Zusammenfassung.

Unter den von uns gewählten, leicht reproduzierbaren und genügend genaue Werte liefernden Bedingungen sind die folgenden Verhältnisse über die Ionenkonzentrationen ermittelt worden:

1. Der mittlere Wasserstoffionenexponent des normalen, von Kohlensäure befreiten Placentarserums ist $p_{H^\cdot} = 7,65$; die H˙-Konzentration schwankt von $0,15 - 0,31 \times 10^{-7}$ (Mittel 0,23); die OH'-Konzentration von $2,3 - 4,8 \times 10^{-7}$ (Mittel 3,13). Die Gefrierpunktserniedrigung schwankt von 0,55 — 0,60 (Mittel 0,573).

2. Der mittlere Wasserstoffionenexponent des normalen, von Kohlensäure befreiten Retroplacentarserums ist $p_{H^\cdot} = 7,96$; die H˙-Konzentration schwankt von $0,07 - 0,15 \times 10^{-7}$ (Mittel 0,11); die OH'-Konzentration von $4,8 - 10,0 \times 10^{-7}$ (Mittel 6,6). Das Retroplacentarserum ist etwas alkalischer als das Placentarserum. Die Gefrierpunktserniedrigung schwankt von 0,52 — 0,59 (Mittel 0,547). Sie ist etwas geringer als die des Placentarserums.

3. Der mittlere Wasserstoffionenexponent des Fruchtwassers ist $p_{H^\cdot} = 8,15$; die H˙-Konzentration schwankt von $0,06 - 0,08 \times 10^{-7}$; die OH-Konzentra-

tion von $9{,}0 - 12{,}0 \times 10^{-7}$. Das Fruchtwasser ist in den drei untersuchten Fällen alkalischer als das zugehörige Placentar- und Retroplacentarserum.

4. Das Placentarserum bei Eklampsie unterscheidet sich in den beiden geprüften Fällen nur wenig von dem normalen, $p_{H^{\cdot}} = 7{,}70$ und $7{,}76$; die $H^{\cdot}$-Konzentrationen sind $0{,}21$ und $0{,}17 \times 10^{-7}$; die OH'-Konzentrationen $3{,}4$ und $4{,}2 \times 10^{-7}$. Die Gefrierpunktserniedrigung ist gegenüber der normalen deutlich erhöht. Das Retroplacentarserum zeigt keine wesentlichen Abweichungen von den normalen Werten.

Es wurden schließlich die Werte für die Ionenkonzentrationen und Gefrierpunktserniedrigungen des Placentar- und Retroplacentarserums an je einem Falle von Nephritis und Epilepsie, für den letzteren auch die Werte des Fruchtwassers ermittelt. Eine Verallgemeinerung lassen diese vereinzelten Fälle nicht zu.

Über das Harneisen. I.

Die Bestimmung des Eisens im Harn.

Von

Otto Wolter.

(Aus dem Institute für Pharmakologie und physiologische Chemie zu Rostock.)

(Eingegangen am 4. Januar 1910.)

Bis etwa zum Jahre 1890 schwankten die für die täglich im Harn des Menschen zur Ausscheidung kommende Eisenmenge angegebenen Zahlen in weiten Grenzen. Erst die Arbeiten einiger Kobertscher Schüler, Damaskin[1]), Kumberg[2]), Busch[3]), Hoffmann[4]), Hueck[5]) und einiger anderer Autoren, wie Lapicque[6]), Stockmann und Greig[7]), Nicola[8]), Neumann und Mayer[9]), Meinertz[10]) und Abeles[11]) zeigen eine gewisse

[1]) Damaskin, Zur Bestimmung des Eisengehaltes des normalen und pathologischen Menschenharnes. Arb. aus d. pharm. Institut Dorpat, 7, 1891.

[2]) Kumberg, Über die Aufnahme und Ausscheidung des Eisens aus dem Organismus. Arb. aus d. pharm. Institut Dorpat, 7, 1891.

[3]) Busch, Über die Resorbierbarkeit einiger organischen Eisenverbindungen. Arb. aus d. pharm. Inst. Dorpat, 7, 1891.

[4]) P. Hoffmann, Über die Bestimmung des Eisens im normalen und pathologischen Menschenharn. Zeitschr. f. analyt. Chem. 40, 73, 1901.

[5]) W. Hueck, Beiträge zur Frage über die Aufnahme und Ausscheidung des Eisens im tierischen Organismus. Inaug.-Diss., Rostock 1905.

[6]) L. Lapicque, Menge des im Urin enthaltenen Eisens. Compt. rend. Soc. Biol. 47, 100, 1895.

[7]) R. Stockmann und W. Greig, Journ. of Physiol. 21, 55, 1897.

[8]) F. Nicola, Das Eisen im normalen Harn. Giorn. della R. accad. di med. di Torino 63, 870, 1900.

[9]) A. Neumann und A. Mayer, Über die Eisenmengen im menschlichen Harn unter normalen und path. Verhältnissen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 143, 1902.

[10]) Meinertz, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 2,, 602 1907.

[11]) Abeles, Das Verhalten des Harneisens bei Hyperglobulie. Zeitschr. f. klin. Med. 59, 510, 1906.

Übereinstimmung der gefundenen Werte. Durch diese Übereinstimmung haben die Ergebnisse der neueren Forschung vollen Anspruch auf Richtigkeit. Von allen Methoden ist namentlich die von Neumann eine, die rasch vielseitigste Anerkennung gefunden hat und sehr verläßliche Werte liefert. Sie hat die Resultate der Kobertschen Schüler vortrefflich ergänzt, und das lang erstrebte Ziel, die Normaleisenzahl für den Menschenharn zu finden, ist nun erreicht.

Zur Frage des locker gebundenen Harneisens.

Hueck sagt, er sei von der Erwägung ausgegangen, daß der frische normale Menschenharn zwar keine Reaktion mit $(NH_4)_2S$ gibt, es aber doch vielleicht möglich wäre, durch längeres Einwirken von Schwefelammonium auf den Harn in der Hitze die Bindung des Eisens unter Umständen zu zerstören und den eisenhaltigen Komplex ganz oder teilweise abzuspalten. Bei diesen Versuchen fand er das sog. locker gebundene Harneisen.

Er versetzte den unfiltrierten Harn (1 l) anfangs mit 25 ccm Schwefelammoniumlösung, später mit 50 ccm, ohne aber dadurch unterschiedliche Resultate zu erzielen. Beim Zusetzen entstand natürlich oft ein Niederschlag von Erdphosphaten, besonders bei Tierharnen. Bemerken möchte ich noch, daß ich sauer reagierenden Harn vorher durch Zusatz von einigen Kubikzentimetern eisenfreien Ammoniaks neutral oder leicht alkalisch machte und dann erst ca. 30 ccm Schwefelammonium pro Liter zusetzte. Das $(NH_4)_2S$ filtrierte ich stets vorher, um etwaige Verunreinigungen mit Schwefeleisen zu vermeiden.

Hueck brachte dann die gesamte Flüssigkeit in einem Glaskolben aufs Wasserbad und erhitzte sie darauf 24 Stunden. Ich brachte meist den mit $(NH_4)_2S$ versetzten Harn (ganze Tagesmenge) in einer großen Porzellanschale aufs Wasserbad und erhitzte so lange, bis der Harn etwa auf ein Drittel des Volumens eingedampft war. Dann brachte ich die Flüssigkeit in ein Becherglas und spülte die Porzellanschale mit destilliertem Wasser nach. Dann wurde der eingeengte Harn, wie es Hueck auch tat, ohne Druck filtriert. Zuletzt wurde der Kolben oder, in meinem Falle, das Becherglas mit Aqu. dest. ausgespült — ich nahm dazu heißes Wasser — und das Spülwasser gleich

zum „Waschen" des Niederschlages benutzt. Das Filtrat war stets klar. Hueck erwähnt weiter, daß er auch stets sämt liche zu seinen Analysen verwandten Reagenzien auf ihre Fe-Freiheit prüfte, was ich natürlich auch tat. Daß wir kein Eisen künstlich eingeschleppt haben, beweist die Tatsache, daß wir, wie wir später sehen werden, oft keine Spur von Eisen bei unseren Bestimmungen fanden.

Soweit stimmt meine Methode mit der Hueckschen überein. Dieser schabt nun den graugelblichen, dicken Niederschlag vorsichtig mit einem Hornspatel vom Filter ab, reinigt dieses durch kräftiges Abspritzen von jedem Rückstand und drückt es noch mit der Hand aus. Um das in der so gewonnenen undurchsichtigen Flüssigkeit zu erwartende Eisen in Lösung zu bekommen, setzte er 5 ccm, höchstens 20 ccm verdünnter eisenfreier Schwefelsäure zu bis zur vollständigen Lösung aller überhaupt löslichen Substanzen. Alsdann fügte er ebenso viele Kubikzentimeter einer 3 $^0/_0$ igen Wasserstoffsuperoxydlösung hinzu, um das Eisen zu oxydieren. Dabei wurde die Flüssigkeit wasserhell bis gelblich und klar und enthielt höchstens noch einzelne Papierfasern vom Filter und etwas ungelösten Gips. Die Lösung wurde in einer Porzellanschale bis auf wenige Kubikzentimeter eingeengt. Dann wurde die Flüssigkeit von den sich ausscheidenden Gipskrystallen abfiltriert. So erhielt Hueck eine völlig klare, leicht gelblich gefärbte Flüssigkeit.

Ich verfuhr so, daß ich den Niederschlag auf dem Filter ließ und zur Lösung des darin enthaltenen Eisens ca. 20 ccm heiße, verdünnte eisenfreie Salzsäure (von der Firma Kahlbaum) hinzufügte. Meist löste sich der ganze Filterrückstand. Blieb ein unlöslicher Rest, brachte ich diesen zur Trockne und glühte ihn leicht. Dann löste er sich gut, soweit nicht etwa Kieselsäure vorhanden war. In der so erhaltenen wasserklaren Lösung entstand ein geringer Bodensatz ganz feiner Gipskrystalle, die aber in keiner Weise störten. Zur Oxydation setzte ich 2 ccm einer 3 $^0/_0$ igen Wasserstoffsuperoxydlösung hinzu.

Hueck bediente sich zur quantitativen Bestimmung des Eisens der colorimetrischen Methode, die zum Teil jodometrisch kontrolliert wurde, während ich meine Resultate nur auf titrimetrischem, und zwar jodometrischem Wege fand. Da ich im Beginne meiner Untersuchungen im Jahre 1907 bei der

Prüfung der Methoden auch mit der colorimetrischen gearbeitet habe, will ich hier kurz darauf eingehen.

Ich benutzte das Präzisionscolorimeter von Heele-Gallenkamp (Berlin), dessen genaue Beschreibung und Abbildung sich in Huecks Arbeit findet. In einem an einer Skala durch eine Schraube verschiebbaren Glaskeil befindet sich die Stammlösung von bekanntem Eisengehalt (z. B. in 1 ccm Flüssigkeit 0,01 mg Fe). Daneben ist ein kleiner Glaszylinder angebracht zur Aufnahme der zu untersuchenden Flüssigkeit. Das rote Licht aus beiden Flüssigkeiten wird mittels eines Prismas so in das Gesichtsfeld eines kleinen Fernrohres gebracht, daß jede Lichtquelle die Hälfte darin einnimmt. Die so aneinander gerückten Farbentöne lassen sich leicht durch Verschieben des Keiles in Einklang bringen. Ein am Keil befindlicher Zeiger gibt an der Skala den Eisengehalt der untersuchten Lösung in Prozenten der Vergleichslösung an. Die Resultate, die ich mit mir unbekannten, reinen salzfreien Eisenlösungen erzielte, waren sehr genaue und ermutigende. Wenn ich trotzdem von dieser Methode abging, lag dies daran, daß bei Anwesenheit von Salzen und Säuren bekanntlich Farbennuancen eintreten, wodurch die Ablesung an Genauigkeit verliert.

Eine Anzahl interessanter Vorversuche, die ich Ende 1907 anstellte, will ich nicht unerwähnt lassen, obwohl sie nicht zu dem gewünschten Ziel geführt haben.

Ich wurde aufmerksam gemacht auf eine in dieser Zeitschr. 2, 251, 1907 von L. Michaelis und L. Pincussohn erschienene Arbeit, die neue ultramikroskopische Beobachtungen zur Theorie der Kolloidfällungen brachte. Es heißt darin, zwei nebeneinander in Lösung befindliche Kolloide (im weitesten Sinne) können in zweierlei Weise aufeinander wirken, entweder sie fällen sich gegenseitig aus, oder das eine übt eine umhüllende Wirkung auf das andere aus, indem das gegen Aussalzung stabilere Kolloid diese Stabilität dem andern mitteilt, oder indem auch unter Umständen umgekehrt das instabilere das stabilere leichter aussalzbar macht. Die Forscher benutzten zu ihren Fällungsversuchen eine alkoholische Mastixlösung. Ich kann hier nicht auf die Erwägungen eingehen, die uns dazu geführt haben, gerade bei Tierharnen Fällungsversuche mit alkoholischer Mastixlösung anzustellen.

Die Methode ist folgende: Eingeengter, mit NH_3 versetzter Harn wurde nach Abkühlen mit 40 ccm alkoh. Mastixlösung versetzt, und es wurden nach kurzem Stehen etwa 10 ccm eisenfreier Eisessig langsam unter Rühren hinzugefügt. Der nach 12 stündigem Stehen aufgetretene dicke, flockige Niederschlag wurde abgesaugt, an der Luft oder im Trockenschrank getrocknet und geglüht. Der Glührückstand wurde mit einigen Tropfen verdünnter Salpetersäure gelöst und mit āā Rhodankalium versetzt. Die Reaktion war dabei stets positiv, aber die gefundenen Werte waren stets zu klein.

Eine Modifikation erfolgte dahin, daß der Filterrückstand nach dem Absaugen erst zur Entfernung des Harzes mit Alkohol ausgewaschen wurde und dann erst in den Glühtiegel kam. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade eingeengt und dadurch gleichzeitig der Alkohol vertrieben. Auf Eisen wurde das alkoholische Filtrat mit negativem Erfolg geprüft.

Hier möchte ich noch erwähnen, daß ich zu einer Portion Harn 10 ccm 1%iges Carniferrin hinzufügte, das von der Fabrik als wasserlöslich bezeichnet war, sich aber nur nach Zusatz einiger Tropfen NaOH löste. Das Carniferrin soll nämlich nach Siegfried[1]) mit dem Harneisen identisch sein. Nach Anwendung der eben geschilderten Methode war das Eisen (Carniferrin hat ungefähr 35% Fe) im Harzniederschlag nicht quantitativ nachzuweisen. Das veranlaßte mich, diese Methode fallen zu lassen, deren theoretische Berechtigung ich aber zugebe.

Hueck untersuchte den Harn von Hunden, Kaninchen und Ziegen nach seiner schon angeführten Methode und kam dabei zu einem höchst bemerkenswerten Resultat.

a) Versuche an normalen Hunden.

Der Harn eines normalen großen Hundes von 17 kg Gewicht, der täglich ungefähr mit der gleichen Menge blutfreien Kälbermagens ernährt wird, wird sorgfältig aufgefangen und in der beschriebenen Weise verarbeitet.

---

[1]) Sämtliche Arbeiten Siegfrieds sowie alle Einwände dagegen finden sich zusammengestellt in O. Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper, 2. Aufl. [Braunschweig 1904], S. 102.

Tabelle I.
Locker gebundenes Harneisen eines normalen Hundes.

Nr.	Harn-menge ccm	Datum	Darin locker gebundenes Eisen
1	1170	8. I. 05	zusammen enthalten 0,325 mg Fe, d. h. ca.
2	1230	9. „ „	0,162 mg Fe pro die
3	1210	12. „ „	enthalten 0,123 mg Fe
4	1200	13. „ „	„ 0,109 „ „
5	1220	28. „ „	zusammen 0,302 „ „ d. h. ca. 0,151 mg Fe
6	1210	29. „ „	pro die
7	1290	30. „ „	„ 0,405 „ „ d. h. ca. 0,202 mg Fe
8	1110	31. „ „	pro die
9	1150	1. II. „	„ 0,342 „ „ d. h. ca. 0,171 mg Fe
10	1350	2. „ „	pro die
11	1230	3. „ „	enthalten 0,141 „ „
12	970	6. VII. „	„ 0,150 „ „
13	820	9. „ „	„ 0,270 „ „
Durchschnitt:			0,166 mg Fe pro Tag

Also ergibt sich nach Hueck im Durchschnitt eine tägliche Ausscheidung von **0,166 mg locker gebundenem Eisen**, während die Gesamtmenge des locker und fest gebundenen Harneisens nach früheren Versuchen von Goswin Zickgraf[1]) an diesem Hunde ca. 1 mg Fe betrug. Die Menge des locker gebundenen Harneisens betrug danach beim normalen Hunde **16,6 % des Gesamteisens** des Harns. Sie schwankt jedoch beträchtlich. Kurz vor Abschluß meiner Arbeit stellte ich nach meiner oben angegebenen Methode auch einige Versuche mit normalem Hundeharn an und fand darin fast 10mal soviel locker gebundenes Eisen als Hueck. Offenbar ist die Art der Fütterung von großem Einfluß auf die Menge des locker gebundenen Eisens. Leider war es mir nicht mehr möglich, eine größere Reihe solcher Versuche bei verschiedener Fütterung anzustellen, aus der ich einen sicheren Schluß auf die Richtigkeit meiner Resultate hätte ziehen können.

b) Versuche an normalen Kaninchen.

Die 24stündige Harnmenge eines kräftigen, etwa 2 kg schweren Kaninchens, das mit der gewöhnlichen Rüben- und Grün-

[1]) G. Zickgraf, Zeitschr. f. anal. Chem. 41, 488, 1902.

fütterung ernährt wird, wird sorgfältig gesammelt und in gleicher Weise verarbeitet. Da es geringe Portionen sind, werden mehrere zusammen untersucht, in gleicher Weise bei einem zweiten und dritten Kaninchen.

Resultat: Im normalen, 24stündigen, 250 bis 400 ccm betragenden Kaninchenharn wurde von Hueck eine Mittelzahl von **0,907 mg locker gebundenem Eisen** gefunden, also weit mehr als beim Hunde.

c) Versuche mit normalem Ziegenharn.

Drei unter gleicher Nahrung stehende Ziegen werden katheterisiert. Von allen zusammen werden nur 240 ccm Harn gewonnen, die etwa einem viertel Tagesquantum eines Tieres entsprechen dürften. Darin wurden von Hueck 0,434 mg Fe in lockerer Bindung gefunden. Die tägliche Harnausscheidung der Ziege zu 1 Liter angenommen, was bei Grünfutter nicht zu hoch gerechnet ist, ergibt **1,8 mg locker gebundenes Eisen.**

d) Versuche mit normalem Hammelharn.

Herr Prof. Honcamp stellte mir gütigst einige Tagesportionen Harn von zwei in der hiesigen landwirtschaftlichen Versuchsstation unter Stoffwechselversuchen stehenden Hammeln zur Verfügung.

Die Tiere bekamen je 1000 g Kleeheu und 8 g NaCl, später Preßkuchen, dann wieder Grünfutter. Unsere Harnportionen stammen aus der Preßkuchenperiode.

Resultat: In der täglichen Harnmenge eines Hammels bei Preßkuchenfütterung fanden sich im Durchschnitt **0,16 mg locker gebundenes Fe.** Es ist denkbar, daß bei Grünfutter diese Menge beträchtlicher sein würde.

e) Versuche mit normalem Ochsenharn.

In einer Portion Ochsenharn, $1^1/_2$ Liter betragend, die mir in liebenswürdigster Weise Herr Geh.-Rat Prof. Dr. Kellner aus Möckern i. S. zugehen ließ, fand ich nicht weniger als 7,30 mg Fe locker gebunden. Auf die ganze Tagesmenge umgerechnet ergeben sich **43,8 mg Fe locker gebunden.**

Jedenfalls geht aus den vorliegenden Versuchen klar hervor, daß bei einer Reihe von Tierarten im normalen Harn stets quantitativ meßbare Mengen locker gebundenes, durch Schwefelammonium in der Hitze fäll-

bares Eisen täglich ausgeschieden werden. Beim Hund variieren diese nach der Fütterungsweise beträchtlich.

f) Versuche an normalem Menschenharn.

Wie allgemein bekannt ist, versuchten ältere Forscher, das Harneisen als Schwefeleisen durch Zusatz von $(NH_4)_2S$ zum frischen Harn zu bestimmen. Mit wenigen Ausnahmen geben diese Autoren an, niemals meßbare Mengen Eisen auf diese Weise im Menschenharn gefunden zu haben.

Hueck hat nun in einer Reihe von etwa 30 aufs genaueste ausgeführten Analysen normalen Menschenharn auf locker gebundenes Eisen untersucht. Er benutzte dazu meist seinen eigenen Harn. Er sagt: „Meine Ernährung war eine mittlere, durchweg regelmäßige, gemischte Kost, aber wohl noch mehr vegetabilische als animalische. Meine tägliche Harnmenge war gering, da ich nur wenig Flüssigkeit zu mir nahm, besonders fast gar keinen Alkohol; sie betrug durchschnittlich 1 l, blieb aber meist unter diesem Werte. Im übrigen bin ich ein großer, völlig gesunder, normaler Mensch von 23 Jahren; mein Körpergewicht beträgt etwa 74 kg. Mein Harn war stets als ‚normal' zu bezeichnen, d. h. von gewöhnlichem spezifischen Gewicht und der gewöhnlichen Farbe, dabei frei von abnormen Bestandteilen. Er wurde unfiltriert verarbeitet." Die Verarbeitung geschah in der oben erwähnten Weise.

Weiteres zeigt die auf Huecks Harnasche bezügliche

Tabelle II.

1.	1680 ccm	(vom 1. III. 05):	kaum Spuren von lockerem Fe,
2.	1450 „	(„ 2. „ „):	„ „ „ „ „
3.	1390 „	(„ 3. „ „):	„ „ „ „ „
4.	1030 „	(„ 26. VI. 05):	keine Färbung mit Rhodan,
5.	790 „	(„ 27. „ „):	kaum merkliche Färbung mit Rhodan (unter 0,08 mg Fe),
6.	1100 „	(„ 28. „ „):	keine Färbung mit Rhodan,
7.	1150 „	(„ 20. VII. 05):	keine meßbaren Spuren von Fe.

Tabelle III. Harn des Institutsdieners.

1.	1450 ccm	(vom 28. IV. 05):	kaum Spuren von lockerem Fe,
2.	1210 „	(„ 29. „ „):	„ „ „ „ „
3.	1470 „	(„ 30. „ „):	„ „ „ „ „
4.	1220 „	(„ 1. V. „):	„ „ „ „ „
5.	1340 „	(„ 2. „ „):	„ „ „ „ „
6.	1110 „	(„ 27. VI. „):	keine Reaktion mit Rhodan,
7.	1200 „	(„ 28. „ „):	„ „ „ „

Hueck kommt zu dem Schluß, daß ein 24stündiges Erhitzen mit Schwefelammonium das im normalen Menschenharn sicher vorhandene Eisen nicht frei zu machen vermag, daß also bei Enthaltung von besonders bluthaltiger Kost im normalen menschlichen Harn niemals meßbare Mengen locker gebundenen Eisens durch seine Methode nachgewiesen werden.

Zu demselben Ergebnis gelangt R. Abeles[1]) in seiner ein Jahr später, 1906, erschienenen Arbeit. Er sagt darin: „Ferner gelang es mir ebensowenig wie Werner Hueck, in gesunden Harnen je locker gebundenes Eisen aufzufinden."

Auch meine mit derselben Methode angestellten Nachprüfungen ergaben dasselbe Resultat.

Wir können also den Satz aufstellen, im normalen Menschenharn finden sich im Gegensatz zu den Befunden beim normalen Harn einiger Tierarten bei gewöhnlicher Ernährung niemals meßbare Mengen locker gebundenen Eisens im Sinne Huecks.

Diese Tatsache besitzt nicht nur wissenschaftliches Interesse, sondern, wie wir gleich sehen werden, auch rein praktisches. Dieses ergibt sich aus den bei den Untersuchungen menschlicher Harne bei einigen Krankheiten gefundenen Resultaten.

g) Verhalten des locker gebundenen Harneisens bei einigen Krankheiten.

Ich führe zunächst wieder eine Reihe Hueckscher Untersuchungen an, die er mit seiner Methode am Menschenharn bei Krankheiten anstellte, die alle mit Blutzerfall verbunden waren.

Zunächst ein von Prof. Martius im Rostocker Ärzteverein vorgestellter Patient, der an einer außerordentlich typischen paroxysmalen Hämoglobinurie, hervorgerufen durch Abkühlung, leidet. Die nach einem binnen 12 Stunden abgelaufenen Anfall gesammelte Urinmenge, die weder Eiweiß noch Blutfarbstoff enthält, beträgt 3500 ccm.

Nachdem der Harn auf $1^1/_2$ l eingeengt ist, wird er nach der Hueckschen Methode verarbeitet und ergibt **0,52 mg locker gebundenes Eisen.**

Diese bedeutende Steigerung gegenüber der normalen locker gebundenen Eisenmenge ist nach Prof. Kobert wohl so zu

---

[1]) Abeles, Das Verhalten des Harneisens bei Hyperglobulie. Zeitschr. f. klin. Med. 59, 510, 1906.

erklären, daß bei dem hämoglobinurischen Anfall nicht etwa die Gesamtmenge des gelösten Blutfarbstoffes durch die Nieren ausgeschieden wird, sondern nur der kleine Teil, der nicht von den normalen Abfangorganen des gelösten Hämoglobins aufgenommen und dadurch dem Kreislauf entzogen worden ist. Die abgefangene Portion des Hämoglobins nun zerfällt in diesen Organen weiter, und das sich dabei ergebende Eisen wird z. T. als locker gebundenes Harneisen in den nächsten Tagen durch den Harn entleert.

Mit Rücksicht auf diese Anschauungen Koberts untersuchte Hueck auch einige Fälle von perniziöser Anämie, die in der hiesigen medizinischen Klinik von Professor Martius beobachtet wurden, auf locker gebundenes Harneisen.

A. F., Gastwirt. In der 24stündigen Harnmenge dieses Patienten vom 18. XI. 1904 fanden sich in 1200 ccm 2,74 mg Fe locker gebunden.

K. M., Tagelöhner, 30 J. Die Untersuchung des Harnes ergab:

am 3. II. 05 in 2400 ccm 0,45 mg Fe
„ 12. „ „ „ 1550 „ 0,50 „ „
„ 22. „ „ „ 1340 „ 0,75 „ „ } locker gebunden.

Der Durchschnitt von 3 Tagen ergibt 0,57 mg locker gebundenes Eisen pro Tag.

Eine Blutuntersuchung am 23. II. 05 hat fast das gleiche Bild wie anfangs, nur sind die Zeichen der Biermerschen Anämie noch ausgesprochener; Erythrocytenzahl 1680000. Der Zustand des Patienten verschlechterte sich in der Folgezeit erheblich. Dieser Verschlechterung entsprach das Ansteigen des locker gebundenen Eisens. Der Harn ergab:

am 6. IV. 05 in 1600 ccm 6,17 mg Fe
„ 10. „ „ „ 1200 „ 6,82 „ „
„ 19. „ „ „ 1350 „ 7,44 „ „ } locker gebunden.

Der Durchschnitt dieser 3 Tage ergibt 6,81 mg locker gebundenes Eisen pro Tag.

A. W., Schuster, 49 J. Der Harn zeigte:

am 8. V. 05 in 1240 ccm 1,16 mg Fe
„ 13. „ „ „ 820 „ 1,33 „ „ } locker gebunden.

Zu diesen Hueckschen Fällen möchte ich noch zwei von mir untersuchte anfügen.

Kapitän Fr. Sch., 65 Jahre alt; ich untersuchte den Harn vom 12. V. bis zum 18. V. auf den Gesamteisengehalt. Am 18. V. bestimmte ich auch das locker gebundene Eisen und fand in der Tagesportion 0,18 mg Fe in lockerer Bindung. An diesem Tage betrug das fest gebundene Eisen 0,51 mg, zusammen also 0,69 mg Fe. Das Gesamtharneisen zeigte hier noch normale Werte. Das locker gebundene Eisen betrug 26% des Gesamteisens.

Werftarbeiter W. Der Harn wurde am 22. VII., 23. VII. und 26. VII. auf fest und locker gebundenes Eisen untersucht. Das fest gebundene war stets normal.

1. Am 22. VII. 09 in 1000 ccm 0,31 mg Fe	} locker gebunden.
2. „ 23. „ „ „ 1730 „ 0,36 „ „	
3. „ 26. „ „ „ 1000 „ 0,67 „ „	

Ergebnis: Wir sehen also aus dem Angeführten, daß im Harn von an schwerer Anämie leidenden Patienten 2 Portionen von Eisen vorhanden sind, von denen die eine fest gebundene in jedem Harn vorkommt, die andere hingegen so locker gebunden ist, daß sie mit Schwefelammonium ausgefällt werden kann. Diese im normalen Harn des Menschen so gut wie gar nicht vorkommende Portion ist anscheinend bei der echten Biermerschen Anämie eine recht beträchtliche, aber eben nur bei der echten Form. Auffallend ist, daß in anderen Fällen, deren Blutbefund scheinbar das Bild einer schweren Anämie bietet, die aber doch dem Wesen nach von der echten Biermerschen Anämie verschieden sein dürften, die Werte für das locker gebundene Harneisen sehr niedrig sind, ja daß dabei das Gesamteisen dauernd normale Werte zeigen kann. Wir stehen hier vor Tatsachen, deren völlige Aufklärung eine größere Reihe systematisch durchgeführter Paralleluntersuchungen des Blutes und Harnes erfordert. Wenn sich im Menschenharn durch 24stündiges Erhitzen mit $(NH_4)_2S$ bestimmbare Mengen von Eisen nachweisen lassen, so deutet dies auf einen pathologischen Prozeß hin, bei dem durch den Zerfall irgendeines Fe-haltigen Gewebes, und zwar doch wohl hauptsächlich oder ausschließlich der roten Blutkörperchen, das Eisen in einer anderen als der normalen Bindung durch den Harn zur Ausscheidung kommt. Dieser Schluß dürfte wohl eine gewisse Berechtigung und große klinische Bedeutung haben.

Einige weitere Untersuchungen, die Hueck in dieser Richtung angestellt hat, beliefen sich auf ein 13jähriges junges Mädchen, das am 23. VII. 05 in die hiesige chirurgische Klinik wegen einer schweren Verbrennung eingeliefert wurde.

Im Harn des Mädchens fanden sich am 31. VII. 05 in 250 ccm 0,46 mg locker gebundenes Eisen. Dies entsprach aber noch nicht der gesamten 24stündigen Harnmenge. In dieser dürften, wenn wir sie auch nur auf 400 ccm berechnen, 0,66 mg Fe locker gebunden vorhanden ge-

wesen sein. In den folgenden Tagen wurde das Harnquantum von 24 Stunden sorgfältig gesammelt, und es fanden sich im Harn vom 1. VIII. 0,82 mg Fe locker gebunden. Der Durchschnitt beider Tage ergibt 0,74 mg Fe pro 24 Stunden locker gebunden.

Am 2. VIII. 05	in	650 ccm	0,30 mg	Fe	}	locker gebunden.
„ 3. „ „	„	650 „	0,41 „	„		
„ 4. „ „	„	800 „	0,34 „	„		
„ 7. „ „	„	380 „	0,59 „	„		
„ 15. „ „	„	875 „	0,35 „	„		
„ 1. IX. „	„	830 „	0,34 „	„		

Durchschnitt von 6 Tagen 0,39 mg locker gebundenes Fe pro 24 Stunden.

Aus diesen Zahlen kann man die Schlußfolgerung ziehen, daß auch der stärkere Blutzerfall, der bei ausgedehnten Verbrennungen eintritt, analog dem stärkeren Blutzerfall bei perniziöser Anämie die Ausscheidung von locker gebundenem Harneisen vermehrt.

Ich lasse einige weitere Krankheiten folgen.

Bei einem Fall von Myxödem fand Hueck in der 24stündigen Harnmenge eines Kindes

am 10. VII. 05	in	450 ccm	0,43 mg	Fe	}	locker gebunden.
„ 18. „ „	„	400 „	0,33 „	„		

Durchschnitt von 2 Tagen 0,38 mg locker gebundenes Fe pro 24 Stunden.

Dadurch, daß die Eltern ihren Wohnsitz änderten, konnte der Fall nicht weiter beobachtet werden, insbesondere konnte die interessante Frage der nunmehrigen Anwendung der Thyreoidtherapie auf die Eisenzahlen nicht mehr entschieden werden. Jedenfalls genügen die Analysen, um eine Vermehrung des Harneisens auch bei Myxödem wahrscheinlich zu machen.

Ein an einer leichten Chorea minor leidendes 4jähriges Kind zeigte in 650 ccm 24stündigen Harnes 0,32 mg Fe locker gebunden.

In welcher Beziehung die beiden letztgenannten Krankheiten zum vermehrten Blutzerfall stehen, ist nicht sicher zu sagen.

Im Harn einer an Diabetes leidenden älteren Frau, deren Harn aber nur Traubenzucker, kein Aceton und keine Säuren enthielt, konnte Hueck keine größeren Spuren von mit Schwefelammonium nachweisbarem Eisen als im normalen Harn finden.

Bei einem 12jährigen Mädchen mit Oxybuttersäure, Acetessigsäure und viel Zucker im Harn fand Prof. Kobert 3 Tage vor dem Tode 0,97 mg Fe locker gebunden pro 24 Stunden.

Weiter kann ich einen von mir untersuchten Fall von Diabetes anführen, der den Arbeiter W., 34 Jahr alt, betraf. Ich fand

am 27. VI. 09	in	3200 ccm	1,26 mg	Fe	}	locker gebunden.
„ 28. „ „	„	2500 „	0,81 „	„		

Im Durchschnitt pro 24 Stunden 1,03 mg locker gebundenes Eisen.

An beiden Tagen Aceton reichlich vorhanden, daneben auch Acetessigsäure. Die Zuckermengen betrugen 1,7 % und 1,1 % bei kohlenhydratfreier Kost, vorher aber 6 %.

Am 1. VII. 09 in 1300 ccm 0,39 mg Fe } locker gebunden.
„ 2. „ „ „ 1700 „ 1,36 „ „ }

Im Durchschnitt pro 24 Stunden 0,88 mg locker gebundenes Eisen.

An beiden Tagen Aceton und Diacetsäure vorhanden, Zuckermenge 0,8 % und 0,9 %.

Diese Resultate passen sehr gut zu denen früherer Untersuchungen, die zeigten, daß es Diabetesformen mit Vermehrung des Gesamteisens im Harn gibt. Die ersten Angaben darüber machte Prof. Koberts Schüler Damaskin. Eine Abhängigkeit von dem Zuckergehalt und der Säurequantität aber zeigen meine Zahlen keineswegs.

Nicht unerwähnt möchte ich eine in der Literatur sich findende interessante Angabe von Abeles[1]) über Hyperglobulie (Polycythaemia rubra) lassen.

Die Eisenbestimmung ergab folgende Werte:

in 1120 ccm 0,23 mg Fe } locker gebunden.
„ 1280 „ 0,29 „ „ }

Durchschnitt 0,26 mg locker gebundenes Eisen pro 24 Stunden.

An 3 darauf folgenden Tagen fand Abeles kein locker gebundenes Eisen. Er bediente sich übrigens der gleichen Methode wie Hueck. Ob nun in diesem Falle das Auftreten von locker gebundenem Eisen im Harn durch die offenbar bestehende Nephritis oder durch die therapeutischen Maßnahmen (am 1. und 2. Tage je eine Injektion von 0,064 Natriumkakodylat, an den folgenden Tagen Anwendung von Röntgenstrahlen in der Milzgegend) bedingt war, bleibt unentschieden.

Schluß. Es ist ein Verdienst von Prof. Kobert, daß er durch Hueck die Existenz von locker gebundenem Harneisen bei Tieren und kranken Menschen hat nachweisen lassen. Nachdem ich diese Angaben bestätigt und erweitert habe, hoffe ich, daß die Physiologen, Pathologen und innern Kliniker dieser hochinteressanten Frage diejenige Aufmerksamkeit zuwenden werden, die ihr gebührt.

Über fest gebundenes Harneisen und Gesamtharneisen.

Neben dem soeben ausführlich besprochenen locker gebundenen Harneisen, dessen Menge in einigen normalen Tierharnen stets quantitativ bestimmbar, aber im normalen

[1]) l. c.

Menschenharn gleich Null ist und nur bei einigen Krankheiten ansteigt, findet sich als größerer Anteil des Gesamtharneisens das organisch fest gebundene Eisen. Es hat eifriger Forschungen bedurft, bevor man den Weg fand, dieses quantitiv zu bestimmen. Auf die bisherigen Methoden und ihre zahlreichen Modifikationen hier näher einzugehen, würde mich zu weit führen.

Für meine Untersuchungen, die sich in erster Linie auf normalen Hundeharn erstreckten, habe ich mich anfangs der Neumannschen Methode bedient, deren Gang in obiger Tabelle geschildert ist. Jedoch waren die Analysen für mich — vielleicht infolge mangelnden Geschickes — so zeit- und materialraubend, daß ich bald zu folgender Modifikation überging.

Zu der eingedampften Portion Hundeharn wurden ca. 50 ccm konz. HNO_3 zugesetzt. Die Säure von der Firma Kahlbaum, Berlin, war eisenfrei. Der sich bald schwarz färbende Harn wurde zur Sirupdicke eingedampft. Dieser Brei wurde mit etwas Aqua dest. aufgenommen und mit dem gleichen Quantum Zinkreagens (vgl. Neumann) versetzt. Der so entstandene Niederschlag wurde auf einem eisenfreien Filter gesammelt, das Filtrat auf Eisen geprüft, Filter im Trockenschrank getrocknet und dann im Glühtiegel verbrannt. Der Glührückstand wurde mit etwas verdünnter Salpetersäure aufgenommen und schließlich das Eisen jodometrisch bestimmt. Die Resultate, die ich damit erzielte, waren entschieden brauchbar, doch es bestand der Zweifel, ob wirklich alles Eisen aus seiner festen Bindung zur quantitativen Bestimmung frei gemacht war. Ich ging daher auch von dieser Modifikation der Neumannschen Methode ab und zu folgender Methodik der Harnverarbeitung über.

Meist wurde der Harn von zwei aufeinander folgenden Tagen auf ein kleines Volumen auf dem Wasserbade eingedampft, dann mit 60 ccm starker eisenfreier Salpetersäure versetzt und so lange auf dem Wasserbade erhitzt, bis das Ganze fast ein gelber, starrer Brei war. Dieser wurde jetzt auf einem Sandbade in einer kleineren Porzellanschale zur Trockne gebracht und verkohlt. Nach dem Abkühlen wurde die schwarze Masse mittels Glasspatels auf ein eisenfreies Filter gebracht und mit heißem Wasser gewaschen. Das Filtrat wurde eingeengt, der Filter-

rückstand geglüht und in eisenfreier verdünnter Mineralsäure (sowohl HNO_3 als HCl waren brauchbar) gelöst, filtriert und die vereinigten Filtrate mit NH_3 neutralisiert. Dann wurde das in Lösung befindliche Eisen mit $(NH_4)_2S$ gefällt. Der schwarzgrüne Schwefeleisenniederschlag, der stets etwas Kalk (als Phosphat) einschloß, wurde auf einem Fe-freien Filter gesammelt, mit kochendem Wasser gewaschen und noch feucht mit 5%iger eisenfreier HCl gelöst. Das so erhaltene völlig klare Filtrat wird mit 5 ccm (später nur mit 2 ccm) H_2O_2 $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunde gekocht, um das Eisenchlorür zu Eisenchlorid zu oxydieren. Nach dem Abkühlen wurden dann 2 g Jodkalium zugesetzt, wobei stets Gelb- und Braunfärbung durch abgespaltenes Jod eintrat. Die Menge desselben wurde durch Titration mittels Natriumthiosulfat nach Zusatz von einigen Tropfen frischer Stärkelösung als Indicator bestimmt. Benutzt wurde $^n/_{100}$-Lösung, die gegen Kaliumbichromat eingestellt wurde.

Im Verlaufe meiner weiteren Untersuchungen kam ich in dem Bestreben, einen möglichst geringe Zeit und kleinen Apparat in Anspruch nehmenden Analysengang zu finden, zu gewissen Modifikationen, die eine Harneisenanalyse auch einem klinischen Laboratorium ermöglichen.

Eine Tagesportion Harn wird mit 30 ccm konz. eisenfreier HNO_3 versetzt und in einer großen Porzellanschale auf dem Wasserbade eingeengt. Dann wird die Flüssigkeit in einer kleinen Porzellanschale auf dem Sandbade bei großer Flamme getrocknet und bei kleiner Flamme verkohlt. Die Kohle wird mit Hilfe eines Glasspatels in einen Glühtiegel gebracht; die der Schale noch anhaftende Kohle wird mit heißem Wasser aufgenommen und mit Hilfe eines Gummiwischers in einen Glühtiegel gebracht. Dieser kommt bis zur Trockne aufs Wasserbad. Dann werden beide Tiegel geglüht. Glührückstand wird mit ca. 30 ccm 10%iger eisenfreier Salzsäure gelöst, im Erlenmeyerkolben mit 2 ccm H_2O_2 $^3/_4$ Stunde gekocht. Nach dem Erkalten werden 2 g Jodkalium und einige Tropfen frischer Stärkelösung hinzugefügt. Dann erfolgt die Titration mit $^1/_{100}$ Natriumthiosulfatlösung.

Dieser Analysengang erfordert sehr wenig Apparate und Material, ebenso einen geringen Aufwand an Arbeit und Zeit; er ist in 8 bis 12 Stunden erledigt.

Trotzdem die Verarbeitung des Harnes von Herbivoren und des Diabetikerharnes mit dieser Methode nicht entfernt die Schwierigkeiten bot, wie sie sich mir bei Anwendung der Neumannschen Säuregemischveraschung zeigten, so sann ich doch darauf, noch eine weitere Erleichterung für derartige Analysen zu finden. Da brachte mich Professor Kobert auf den Gedanken, den Harn vor der Veraschung der Dialyse zu unterwerfen, da nach Zickgrafs Versuchen das Harneisen sich wie ein Kolloid verhält. Bisher hat noch kein anderer Autor über Harneisen sich mit der Frage beschäftigt, ob das Harneisen in krystalloider oder kolloider Form auftritt. Da er im Menschenharn mit den üblichen Eisenreagenzien nicht nachweisbar ist, so ist es wahrscheinlich, daß es kolloid vorhanden ist. Es schien mir nicht uninteressant, diese Frage bei meinen Versuchen mit zu beantworten und gleichzeitig dadurch meine einfache Versuchstechnik eventuell noch zu vereinfachen.

Aus einem Glaszylinder von ca. 20 ccm Durchmesser wurde der Boden herausgeschnitten und durch fest umgebundenes Pergamentpapier in doppelter Lage ersetzt. Dieser so mit einer semipermeablen Membran versehene Zylinder, der mehrere Liter Flüssigkeit fassen konnte, hing bis zu einem Viertel seiner Höhe in einem wassergefüllten Porzellangefäß, das durch konstanten Zufluß immer frisches, eisenfreies Wasser erhielt.

Für normalen Tier- und Menschenharn bestanden die durch 24stündige Dialyse erzielten Vorteile nur darin, daß sich die Veraschung des salzärmer gewordenen Harnes schneller vollzog und die Menge der Kohle oft eine auffallend geringe war. In die Augen springender war der bedeutende Vorzug dieser Methode bei dem Veraschen von Herbivoren- und Diabetikerharn. Die sonst leicht überschäumende, mit HNO_3 versetzte Flüssigkeit konnte ohne Verlust zur Trockne und zum Verkohlen gebracht werden; die sonst kaum zu bewältigende, poröse Kohlenmasse war hierbei geringer und konnte in zwei kleinen Tiegeln geglüht werden.

So freudig ich auch diese Modifikation meiner Methode begrüßte, so kam mir doch immer wieder der Gedanke, es könne bei dieser Manipulation Eisen verloren gehen. Ich stellte daher folgenden Versuch an.

Von 1000 ccm Hundeharn wurden, nachdem er gut durchgeschüttelt war, 500 ccm nach Zusatz von 15 ccm konz. HNO_3 in den Dialysator gebracht und 24 Stunden der Dialyse unterworfen, während die anderen 500 ccm mit 30 ccm konz. HNO_3 versetzt und in der oben geschilderten Weise weiter verarbeitet wurden. Die dialysierte Portion wurde dann noch mit 15 ccm HNO_3 versetzt und genau demselben Analysengange unterworfen.

Resultat: Bei beiden Portionen wurden beim Titrieren genau 2 ccm $^1/_{100}$ Natriumthiosulfatlösung verbraucht, d. h.

Portion I. 500 ccm (24 Std. dialys.) 0,93 mg Fe,
Portion II. 500 „ (nicht dialys.) 0,93 „ „

Ein zweiter, in gleicher Weise angestellter Versuch ergab:

Portion I. 500 ccm (24 Std. dialys.) 1,36 mg Fe,
Portion II. 500 „ (nicht dialys.) 1,30 „ „

So ist in der Tat bewiesen, daß der Harn bei 24stündiger Dialyse keine Einbuße an Eisen erleidet, und daß das Eisen in kolloider Form im Harn enthalten ist, worauf schon Zickgrafs Versuche hinwiesen. Diese Tatsache ist theoretisch und praktisch von großem Interesse.

Nicht unerwähnt will ich lassen, daß ich alle Reagenzien, die ich zu meinen Analysen verwandte, öfter auf Eisen prüfte (Rhodanprobe) und im aschefreien Filter mit Hilfe der colorimetrischen Methode 0,0015 mg Fe fand, also einen Wert, der, namentlich da ich immer die gleichen Filter benutzte, vollkommen in der Fehlergrenze liegt. Die Methodik machte eine Korrektur nötig. Zu der Eisenlösung wurde, wie schon erwähnt, H_2O_2 im Überschuß zugesetzt. Der größte Teil davon wurde durch Kochen entfernt. Der Rest ist imstande, aus dem zugefügten KJ Jod frei zu machen. Durch vielfache blinde Versuche (ca. 30 ccm 10%ige HCl + 20 ccm Aqua dest. + 2 ccm H_2O_2, $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunde gekocht, nach Abkühlen mit 2 g JK versetzt und mit $^1/_{100}$ Natriumthiosulfatlösung titriert) konnte ich feststellen, daß die Korrektur 0,32 mg betrug, also ziemlich hoch war. Aber da ich stets gleiches Material und immer das gleiche Quantum davon benutzte, erlitt die Genauigkeit meiner Resultate keine Einbuße.

Über das Harneisen. II.

Die Menge des Eisens im Harn.

Von

Otto Wolter.

(Aus dem Institute für Pharmakologie und physiologische Chemie zu Rostock.)

(Eingegangen am 4. Januar 1910.)

1. Gesamtharneisen bei einigen Tieren.

C. Jakobj[1]) fand 1891 bei einem Hunde von 12,8 kg Gewicht das Mittel für drei Normaltage zu 1,18 mg Fe. Er gibt für weitere 5 Normaltage einen Durchschnitt von 1,17 mg Fe und für noch 4 Tage einen solchen von 0,87 mg Fe an.

1902 erhielt Zickgraf[2]) in unserem Institute auf dem Wege der nassen Veraschung von 10 Analysen im Hundeharn einen Durchschnittswert von 1,09 mg Fe pro die, und mit einer Fällungsmethode, die auf Niederreißen des Fe hinausläuft, einen ganz entsprechenden Durchschnitt für weitere 10 Tage, nämlich 1,001 mg Fe pro die.

Ich erhielt bei einer Versuchsreihe, die ich an einem etwa 20 kg schweren Hund mit meiner ersten Fällungsmethode anstellte, für eine erste Reihe einen Durchschnittswert für 18 Tage von 3,94 mg Fe pro die, bei einer zweiten am selben Hunde einen Durchschnitt von 0,74 mg Fe pro die für 14 Tage, bei einer dritten Reihe für weitere 13 Tage 0,70 mg Fe pro die. Später untersuchte ich den Harn eines anderen 21 kg schweren Hundes mit meiner zuletzt angegebenen Methode nd fand bei einer ersten Reihe als Mittelwerte für 18 Tage 2,52 mg Fe pro die, bei einer zweiten Reihe von 13 Tagen 1,06 mg Fe pro die und bei einer dritten Reihe von 12 Tagen 0,92 mg Fe pro die.

---

[1]) C. Jacobj, Über das Schicksal der ins Blut gelangten Eisensalze. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 28, 256, 1891.

[2]) G. Zickgraf, Über eine neue Bestimmung des Eisens im Harn. Zeitschr. f. anal. Chem. 41, 488, 1902.

Die Vorbedingungen für meine Versuche waren einwandfrei. Der Hund befand sich bei gleichartiger blutfreier Kost in einer geräumigen Kiste, die vor Beginn meiner Untersuchungen neu mit Zinkblech vollständig ausgekleidet wurde, und dessen deckendes Gitter mit Ölfarbe gestrichen war, so daß der Hund keinen Rost lecken konnte.

Den Harn bekam ich klar, ohne Verunreinigungen und quantitativ, weil die Hunde ihren Urin in eine untergehaltene Schale entleerten. So ergibt sich, daß die Differenz der Resultate sich daraus erklären läßt, daß beim Hunde die Eisenausscheidung im Harn im hohen Grade von der Fütterungsweise abhängig ist, wie weiter unten noch ausführlich dargetan werden soll. Die Eisenausscheidung geht ferner nicht kontinuierlich vor sich, beträgt aber, wenn man etwa 10 Tage zusammenfaßt, bei gewöhnlicher blutarmer Kost bei einem etwa 20 kg schweren Hunde nach vielen Autoren durchschnittlich **etwa 1 mg Fe pro 24 Stunden.**

Um einen Einblick zu gewinnen, wie sich das Harneisen bei Kaninchen verhält, brachte ich zwei gesunde Tiere in einen Glaskäfig, der mit einem verzinkten Drahtnetz bedeckt wurde. Um gröbere Verunreinigungen durch Heu- oder Kotpartikelchen auszuschalten, goß ich stets den Harn durch ein lockermaschiges zweifaches Tuch. Als Methode der Harnverarbeitung kam meine zuletzt angeführte in Betracht.

Die nachstehende Tabelle zeigt die Resultate meiner Untersuchungen.

Tabelle IV.

Nr.	Harn ccm	Für zwei Tiere mg Fe pro die	Für ein Tier berechnet mg Fe pro die
I.	550	4,35	2,18
II.	745	3,21	1,61
III.	770	2,25	1,13
IV.	500	3,92	1,96
V.	810	1,24	0,62
VI.	840	2,80	1,40
VII.	920	1,00	0,50
VIII.	510	1,02	0,51
IX.	850	0,88	0,44
X.	800	1,10	0,55

Durchschnitt: **1,09 mg Fe für 1 Mittelkaninchen pro 24 Stunden.**

Ich fand also für 10 Tage einen Durchschnitt von 1,09 mg Fe pro die für ein Kaninchen, d. h. eine im Verhältnis zum Gewicht des Tieres verglichen mit dem Hunde ziemlich große Menge. Auch aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß das Harneisen auch beim Kaninchen nicht kontinuierlich in gleich großen Mengen ausgeschieden wird, sondern wie beim Hunde Schwankungen aufweist.

In dem schon im vorigen Kapitel erwähnten Hammelharn fand ich mit der gleichen Methode an 4 Tagen folgende Werte für das Gesamteisen:

Tabelle V.

Nr.	Harn ccm	Gesamteisen mg Fe pro die
I.	728	2,85
II.	775	2,97
III.	1050	1,23
IV.	1070	2,09

Durchschnitt: 2,29 mg Fe pro Tag und Hammel.

Die durchschnittliche tägliche Harneisenausscheidung beim Hammel beträgt also 2,29 mg.

Wir werden im nächsten Kapitel sehen, daß alle diese Werte nur cum grano salis aufzufassen sind. Sie sind in hohem Grade von der Art der Ernährung abhängig.

In ihrer Arbeit über „Verdauungssäfte und Stoffwechsel" machen Bidder und Schmidt[1]) die Angabe, daß sie im Harn ihrer hungernden Katze täglich **1,4 bis 1,7 mg Fe** gefunden haben. Es ist anzunehmen, daß bei Milchfütterung die Menge ungefähr dieselbe, bei Fleischfütterung aber wohl doppelt so hoch sein wird.

In der Literatur fand ich ferner eine Arbeit von Charles Dhéré[2]) zitiert, die Angaben über die Ausscheidung von Eisen im Harn von Herbivoren enthält. Er findet für Pferdeharn: 0,36 bis 0,46 mg Fe pro Liter; im Harn der Kuh: 0,44 bis 0,48 mg Fe pro Liter; bei einer Ziege: 0,32 mg Fe pro Liter. Zu der Umrechnung auf den Tag muß man die Harnmenge kennen. Leider war mir das Original

[1]) Bidder und Schmidt, Verdauungssäfte und Stoffwechsel [Mitau und Leipzig 1852], S. 411.

[2]) Charles Dhéré, Über die Ausscheidung von Eisen bei den Herbivoren. Journ. d. Physiol. 5, 630, 1903.

dieser Arbeit nicht zugänglich, und ich weiß nicht, welcher Methode sich Verf. bei seinen Untersuchungen bedient hat. Mir erscheinen die gefundenen Werte etwas zu klein, wenn man sie auf die Tagesportion umrechnet, besonders in Hinblick auf Huecks Resultat vom Ziegenharn, der allein etwa 1,81 mg locker gebundenes Eisen pro Liter fand.

Das sind unsere Kenntnisse über das Gesamtharneisen einiger Tierarten. Erwähnen möchte ich noch, daß ich bei meinen Versuchen an den beiden Hunden den Eindruck gewonnen habe, daß die Werte für das Harneisen sofort in die Höhe gingen, sobald die Tiere Durchfall bekamen, was bei länger fortgesetzter Brotkost stets eintrat. Dieses sehr unangenehmen Umstandes wegen habe ich viele meiner Bestimmungen verwerfen müssen.

2. Gesamteisen im normalen Menschenharn.

Daß die Frage des fest gebundenen Eisens im normalen Menschenharn zu einem endgültigen Abschluß gelangt ist, habe ich eingangs meiner Arbeit schon erwähnt. Die nebenstehende Tabelle der chronologisch geordneten Resultate der Harneisenforschung beim Menschen zeigt die außerordentlichen Schwankungen der früheren Werte. Erst Koberts Schüler Damaskin ist es gelungen, eine Normalzahl für das Harneisen beim Menschen festzustellen. Diese Zahl bezieht sich auf blutfreie Kost.

Tabelle VI.

Jahr	Name	Durchschnittszahl pro die mg Fe	Jahr	Name	Durchschnittszahl pro die mg Fe
1849	Fleitmann	3,0	1895	Lapicque	unwägbare Spuren
1867	Boussingault	6,0			
1874	Magnier	7,0	1895	Bunge	0,5—1,5
1878	Hamburger	3,6	1897	Stockmann und Greig	0,97
1882	Müller	10,5			
1887	Walter	0,9—10,1	1900	Nicola	1,13
1889	Gottlieb	2,59	1900	Jolles und Winkler	8,0
1891	Damaskin	1,0			
1891	Kumberg	0,63	1901	Hoffmann	1,09
1891	Busch	1,06	1902	Neumann und Mayer	0,98
1894	Hall	0,5			
1894	Hopkins	3,7	1905	Hueck	0,72
1894	Colasanti und Jacoangeli	2,3	1906	Meinertz	1,0
			1906	Abeles	0,74—1,02

An 6 Tagen untersuchte ich meinen Harn und fand folgende Werte:

Tabelle VII.

Nr.	ccm	Datum	mg Fe pro 24 Std.
I.	1350	5. V. 09	0,47
II.	1020	6. „ „	0,98
III.	840	7. „ „	1,87
IV.	900	8. „ „	0,53
V.	750	11. „ „	0,41
VI.	800	12. „ „	0,41

Durchschnitt: **0,78 mg Fe pro 24 Stunden** als Menge des Gesamteisens in meinem eigenen Harn.

Wie ich für den Hundeharn habe behaupten müssen, daß die Menge eines einzelnen Tages keinen Schluß auf den Durchschnitt gestattet, so muß ich dies jetzt auch für den Menschenharn behaupten. Die Schwankungsbreite ist eine sehr beträchtliche, bei mir zwischen 0,41 mg und 1,87 mg liegend. Mein Durchschnittswert stimmt mit dem von Kumberg, Hueck und Abeles gefundenen gut überein. Letzterer findet an 4 Tagen pro die: 0,98 mg Fe; 0,87 mg Fe; 1,02 mg Fe; 0,74 mg Fe; im Durchschnitt also 0,9 mg Fe. Abeles führt ferner G. v. Wendt[1]) an, der an 35 Versuchstagen 1,00 mg Fe im Durchschnitt pro die fand. Leider war mir das Original nicht zugänglich.

Gesamtergebnis. Wir sehen also aus dem Vorstehenden, daß die durchschnittliche Eisenausscheidung im Harn eines gesunden, normal ernährten Menschen annähernd 1 mg pro die beträgt.

Trotz Feststellung dieser Tatsache durch die übereinstimmenden Resultate vieler Autoren, die sich der verschiedensten Untersuchungsmethoden bedienten, finden sich selbst in einigen neueren Lehrbüchern keine oder sehr ungenaue Angaben darüber.

Bei Bunge, Lehrbuch der physiolog. und patholog. Chemie, 4. Aufl., 1898, S. 404 findet sich die Angabe, daß im normalen Harn keine quantitativ bestimmbaren Mengen Eisen vorhanden sind.

[1]) Untersuchungen über den Eiweiß- und Salzstoffwechsel beim Menschen, Skand. Arch. f. Physiol. 17, 211.

In Botazzi, Physiologische Chemie, 1902, deutsch von H. Boruttau, heißt es, der Eisengehalt des Harnes ist vielfach untersucht worden; er sollte zwischen 0,001 und 0,011 $^0/_{00}$ schwanken.

Abderhalden, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 1906, erwähnt das Eisen im Harn überhaupt nicht.

Hammarsten sagt in seinem Lehrbuch der physiologischen Chemie, 6. Aufl., 1907, S. 624: Die Angaben über die Menge des Eisens deuten darauf hin, daß diese Menge eine sehr schwankende, von 1 bis 11 mg pro Liter Harn, ist.

In der Biochemie von Dr. F. Röhmann, Berlin 1908, findet sich keine Angabe über das Harneisen.

Landois, Lehrbuch der Physiologie, neu herausgegeben von Rosemann, 12. Aufl., 1909, führt die Angabe von Neumann und Mayer an, wonach 0,93 bis 1,14 mg für den Menschen der 24stündige Durchschnitt ist.

Selbst in dem großen Nagelschen Handbuch der Physiologie ist das Harneisen in zwei Sätzen abgehandelt und nur auf die außerordentlich schwankenden Werte, von 0,5 bis 11 mg Fe pro Tag hingewiesen.

Ganz richtig enthält das Buch von Albu-Neuberg, Mineralstoffwechsel, Berlin 1906, die Angabe, daß die Normalzahl für den Menschen 1,00 mg Fe beträgt; nichts erwähnt ist dagegen vom locker gebundenen Eisen. Eine weitere Bestätigung der Normalzahl findet sich in der Arbeit von Abeles[1]) und in der von Meinertz[2]).

Eine Angabe über die physiologische Steigerung dieses Wertes von 1 mg Fe pro die findet sich in der Arbeit von Wychgel[3]), der Untersuchungen am Harn Schwangerer angestellt hat. Es heißt da, daß Schwangere im Urin mehr Eisen ausscheiden als Nichtschwangere bei gleicher Ernährung. Es wäre sicher eine dankenswerte Aufgabe, mit neueren Methoden weitere Untersuchungen in dieser Richtung anzustellen.

Weiterhin hat man beobachtet, daß eine vermehrte Harnmenge auch mehr Eisen aus dem Körper herausspült.

Schließlich ist auch eine physiologische Steigerung möglich durch eisenreichere Nahrung, und wir müssen wohl die täglichen Schwankungen in der Eisenausscheidung im Harn zu einem gewissen Teile auf Konto der täglich verschiedenen Kost setzen, namentlich falls diese Blut enthält.

---

[1]) Abeles, Das Verhalten des Harneisens bei Hyperglobulie. Zeitschr. f. klin. Med. 59, 510, 1906.

[2]) Meinertz, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 2, 602, 1906.

[3]) H. C. Wychgel, Untersuchungen über das Pigment der Haut und den Urin während der Schwangerschaft. Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäk. 47, 288, 1904.

Es wäre nicht undenkbar, daß die Ausscheidung des Harneisens auch bei längerer verstärkter Muskeltätigkeit vorübergehend eine Steigerung erfährt, jedoch habe ich in der Literatur solche Angaben nicht finden können.

3. Das Verhalten des festgebundenen und des Gesamteisens bei einigen Krankheiten.

Die Erhöhung des Harneisens, die man bei einigen Krankheiten findet, geschieht weniger durch Steigerung des Normaleisens, als vielmehr durch pathologisch auftretendes, locker gebundenes Eisen. Die Menge des fest gebundenen Eisens kann bei diesen Krankheiten unverändert, ja sogar vermindert sein. So fand ich bei der Untersuchung des Harnes eines Diabetikers in der nachstehenden Tabelle verzeichnete Werte.

Tabelle VIII.

Nr.	Harn ccm	Locker gebundenes Eisen mg	Fest gebundenes Eisen mg	Gesamteisen mg	Umgerechnet auf die Tagesmenge mg	Bemerkungen
I.	1480	—	—	1,37	1,67	Sacch. 5 %
II.	1740	—	—	1,84	2,01	„ 2,5 % Aceton vorh., Diacetsäure angedeut.
III.	1000	—	—	0,78	1,87	Sacch. 2,6 %
IV.	1650	0,65	0,42	1,07	2,08	„ 1,7 %
V.	1450	0,63	0,41	1,04	1,79	„ 1,1 %
VI.	1000	0,30	—	—	—	„ 0,7—0,8 %
VII.	1000	0,80	0,32	1,12	1,90	„ 0,9 %

Der Durchschnitt von 6 Tagen für das Gesamteisen beträgt 1,89 mg Fe pro 24 Stunden.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß das fest gebundene Eisen keineswegs erhöht, eher noch vermindert ist, und daß der erhöhte Durchschnittswert auf das an einigen Tagen in ziemlicher Menge auftretende locker gebundene Eisen zurückzuführen ist. Irgend eine Beziehung zum Zuckergehalt des Harnes hat das Harneisen nicht.

Bei dem schon erwähnten Falle von perniziöser Anämie, Arbeiter W., fand ich ebenfalls eine Steigerung der Ausscheidung des Gesamtharneisens, wie nachstehende Tabelle zeigt.

Tabelle IX.

Nr.	Datum	Harn ccm	Locker gebundenes Eisen mg	Fest gebundenes Eisen mg	Gesamteisen mg
I.	22. VII. 09	1000	0,31	2,18	2,49
II.	23. " "	1730	0,36	1,69	2,05
III.	24. " "	1400	0,18	1,19	1,37
IV.	26. " "	1000	0,67	2,09	2,76
V.	29. " "	1240	—	—	1,45

Durchschnitt von 5 Tagen: 2,02 mg Gesamteisen pro 24 Stunden.

Dieser Fall zeigt neben dem Auftreten des locker gebundenen Eisens auch eine deutliche Erhöhung des fest gebundenen Eisens. Bis zu der Zeit, wo ich den Harn untersuchte, war weder aus dem Blutbild noch aus den Eisenzahlen ein günstiger Einfluß der Therapie (Natrium arsenicicum) zu erkennen.

Ganz anders verhielt sich ein Fall von perniziöser Anämie, bei dem ich an 4 Tagen die Eisenbestimmungen im Harn machte.

Tabelle X.

Nr.	Datum	Menge	Resultat
I.	18. V. 09	1100	0,96 mg Gesamteisen
II.	8. VI. "	1900	1,30 " "
III.	9. " "	900	0,68 " "
IV.	10. " "	1100	0,68 " "

Durchschnitt: 0,91 mg Fe pro 24 Stunden.

So war ich außer aus dem klinisch langen Verlauf auch auf Grund meiner Resultate imstande, eine besondere Form der perniziösen Anämie zu diagnostizieren, bei der die gesamte Eisenausscheidung keine Erhöhung erfährt, trotzdem der Blutbefund eine bedeutende Steigerung erwarten ließ. Sehr wahrscheinlich würde ich aber bei Untersuchungen auf locker gebundenes Eisen solches gefunden haben.

Dieser Schluß gewinnt an Wahrscheinlichkeit bei Betrachtung des ebenfalls oben schon erwähnten Falles von Anämia gravis, der den Kapitän Fr. Sch. betraf.

Tabelle XI.

Zahl	Datum	Menge ccm	Resultate mg Fe
I.	12. V. 09	1930	2,07
II.	13. „ „	1800	2,04
III.	14. „ „	2200	2,08
IV.	15. „ „	1800	1,80
V.	16. „ „	2400	1,18
VI.	17. „ „	1800	1,58
VII.	18. „ „	2100	0,69 (0,51 mg fest, 0,18 mg locker geb.)

Im Durchschnitt: 1,63 mg Fe pro 24 Stunden.

Auch ohne Kenntnis des Blutbefundes hätte man hieraus eine gute Prognose stellen können. Patient wurde „wesentlich gebessert" entlassen. Eine Nachuntersuchung am 9. VI. ergab 80% Hämoglobin nach Tallquist, während anfangs nur 50% vorhanden waren.

Hierher gehören auch die Fälle von Polycythaemia rubra, die ich oben schon erwähnte, an denen A. Abeles Harneisenanalysen nach der Neumannschen Methode anstellte, Fall I (Tabelle XII) und II (Tabelle XIII).

Tabelle XII.

Tag	Harmenge ccm	Resultat mg Fe
1.	1360	2,05
2.	855	2,00
3.	650	3,01
4.	730	3,89

Durchschnittlich 2,74 mg Fe pro 24 Stunden.

Tabelle XIII.

Tag	Harnmenge ccm	Resultat mg Fe
1.	1120	2,44
2.	1280	2,35
3.	1700	3,12
4.	1270	2,25
5.	1430	2,14

Also im Durchschnitt 2,46 mg Fe pro 24 Stunden.

Das Gesamtergebnis ist: Bei der Polycythaemia rubra ist das Gesamtharneisen deutlich vermehrt.

Frühere Autoren berichten über Vermehrung des Harneisens bei einigen anderen Krankheiten fieberhafter und nicht fieberhafter Art, z. B. Stoffwechselerkrankungen und Carcinomen.

Damaskin fand unter Kobert das Harneisen bei Ikterusharn kaum, bei interstitieller Nephritis nur spurenweise erhöht; bei parenchymatöser soll der Fe-Gehalt des Harnes um 100% gesteigert sein können. Er fand ferner eine deutliche Erhöhung bei Diabetes mellitus, eine wesentliche Steigerung bei perniziöser Anämie, eine Verminderung der Eisenausscheidung bei Blutungsanämie.

G. Colasanti und T. Jacoangeli[1]) berichten über ein Ansteigen des Eisens im Harne bei Fiebernden, ebenso bei Malariakranken.

Hoffmann[2]) fand unter Kobert das Eisen im Leukämikerharn kaum vermehrt, wohl aber im Diabetikerharn.

Neumann und Mayer fanden eine Steigerung bei Lebercirrhose, bei Diabetes und ganz besonders im Harne eines Potators.

Alle diese Resultate sind lose Steine, deren Wert darin liegt, daß sie, genügend bearbeitet, das Fundament abgeben werden zu einem Gebäude exakter diagnostischer und prognostischer Hilfsmittel. Eine Übersichtstabelle würde uns in diesem Falle nicht weiter helfen, da die von den einzelnen Autoren gefundenen Werte sich untereinander gar nicht vergleichen lassen, da die Methoden zu verschiedene sind. Wohl aber habe ich im Verlaufe meiner Untersuchungen die Überzeugung gewonnen, daß uns die Harneisenanalyse in der Klinik, besonders bei der Diffenzierung der einzelnen sekundären Blutkrankheiten ein willkommenes Hilfsmittel sein wird. Allerdings ist zunächst ein weiterer Ausbau der klinischen Verwendbarkeit, eine längere systematische Untersuchung einschlägiger Fälle nötig.

Läßt sich die Eisenausscheidung im Harn irgendwie beeinflussen?

Die Lösung dieser Frage hat schon viele Autoren beschäftigt. Ja, man kann sagen, sie ist so alt wie die Harneisenfrage selbst. Ich werde im folgenden in erster Linie meine eigenen Untersuchungen besprechen.

1. Herabdrücken der Eisenzahl beim Hunde durch Übergang von Fleisch- zur Brotkost.

Die Versuchsanordnung war folgende:

Ein 20,5 kg schwerer Hund, der monatelang zwar ausschließlich mit Rindermagen ernährt war, davon aber beliebig viel fressen konnte,

---

[1]) G. Colasanti und T. Jacoangeli, Riforma medica 1, 39, 1894.

[2]) P. Hoffmann, Über die Bestimmung des Eisens im normalen und pathologischen Menschenharn. Zeitschr. f. analyt. Chem. 40, 73, 1901.

bekommt täglich nur einmal 2000 g in Wasser eingeweichten Rindermagen, während er bis dahin wohl viel mehr gefressen hatte. Der Harn war dabei stets klar. Nach Katz (Pflügers Archiv 13, 1, 1896) beträgt die Eisenoxyd- (Fe_2O_3-) Menge des Rindfleisches 0,035%; nach Bunge enthält das Rindfleisch 0,024% Fe_2O_3 (Zeitschr. f. Biol. 45, 532). Dr. Halberkann, damals erster Assistent unseres Instituts, fand in 100 g Magen 20,2 mg Fe_2O_3 = 14,1 mg Fe, in Prozenten also 0,020%. Der Kot enthielt, wie zwei Kotanalysen zeigten, entsprechend dem in der Nahrung eingeführten Eisen sehr reichlich Eisen. Von Hämoglobin, Methämoglobin, Hämatin, Hämochromogen und Hämatoporphyrin waren im Kot nicht einmal Spuren vorhanden. Folglich ist alles Blutfarbstoffeisen des verfütterten Magens resorbiert worden, und das im Kot befindliche Eisen ist als durch die Darmwandung ausgeschiedenes anzusehen.

Die nachstehenden Tabellen zeigen den Gesamteisengehalt des Fleischharnes.

Tabelle XIV.

Datum	Fe pro Tag mg	Bemerkungen	Datum	Fe pro Tag mg	Bemerkungen
4. XII. 07	4,25	Konstante Nahrung von 2000 g Rindermagen täglich, entsprechend 282 mg Fe.	12. XII. 07	4,16	Konstante Nahrung von 2000 g Rindermagen täglich, entsprechend 282 mg Fe.
5. " "	6,54		13. " "	3,80	
6. " "	3,09		14. " "	4,19	
7. " "	3,35		15. " "	4,41	
8. " "	4,09		16. " "	4,25	
9. " "	4,09		17. " "	2,37	
10. " "	4,16		18. " "	2,21	
11. " "	4,11				

Die Tabelle zeigt, daß die Eisenmenge des Harns anfangs als Nachwirkung des vorher in beliebigen Mengen gefressenen Magens recht hoch ist und erst nach 2 Wochen absinkt. Daß sie überhaupt absinkt, ist sehr auffällig, da ja täglich immer noch 282 mg Fe in organischer Form zugeführt werden.

Nachdem der Hund 34 Tage lang auf konstante Fleischkost gesetzt war, erhält er vom 8. I. 08 an 1 kg Schwarzbrot = 76,1 mg Fe. Dabei zeigt sich folgendes:

Tabelle XV.

Datum	Resultat mg Fe	Bemerkungen	Datum	Resultat mg Fe	Bemerkungen
10. I. 09	2,19	Nachwirkung der Fleischkost.	26. I. 09	0,28	Vom 8. I. ab täglich 1 kg Schwarzbrot, entsprechend 76,1 mg Fe. Werte des Harneisens dauernd niedrig, von Tag zu Tag aber schwankend.
11. " "	1,89		30. " "	0,39	
16. " "	0,35	Vom 8. I. ab täglich 1 kg Schwarzbrot, entsprechend 76,1 mg Fe. Werte des Harneisens dauernd niedrig, von Tag zu Tag aber schwankend.	31. " "	0,34	
17. " "	0,27		1. II. 09	0,77	
18. " "	0,27		5. " "	0 31	
19. " "	0,29		6. " "	0,28	
20. " "	0,14		7. " "	0,10	
21. " "	0,19		8. " "	0,46	

Betrug der Durchschnitt bei Fleischkost **3,94 mg Fe pro die**, so sinkt dieser nach Einsetzen der Brotkost ab und hält sich nun auf einer sehr geringen Höhe, so daß der Durchschnitt jetzt nur **0,32 mg Fe pro die** beträgt.

Nicht so ausgesprochen, aber immerhin sehr deutlich ist der Einfluß des Wechsels von Fleisch- zur Brotkost bei den Versuchen an einem anderen, 21 kg schweren Hunde, der eine Zeitlang täglich 1500 g Rindermagen frißt, also weniger als der erste.

Tabelle XVI.

Datum	Resultat mg Fe	Bemerkungen	Datum	Resultat mg Fe	Bemerkungen
2. X. 08	3,75	Täglich 1500 g Magen, entsprechend 211 mg Fe.	15. X. 08	1,77	Täglich 1500 g Magen, entsprechend 211 mg Fe.
3. " "	2,16		16. " "	3,20	
4. " "	1,16		17. " "	1,85	
5. " "	2,06		18. " "	6,11	
6. " "	1,50		20. " "	1,41	
7. " "	5,13		21. " "	1,16	
8. " "	4,53		23. " "	1,24	
12. " "	4,87		24. " "	1,86	
14. " "	0,82				

Nachdem der Hund vom 2. X. 08 konstante Fleischnahrung erhalten hat, bekommt er vom 25. X. an täglich 750 g Brot, also weniger als der erste. Einige Tage darauf macht sich ein deutliches Absinken bemerkbar.

Tabelle XVII.

Datum	Resultat mg Fe	Bemerkungen	Datum	Resultat mg Fe	Bemerkungen
27. X. 08	1,67	Vom 25. X. ab täglich 750 g Schwarzbrot, entsprechend 57,1 mg Fe.	9. XI. 08	0,96	Vom 25. X. ab täglich 750 g Schwarzbrot, entsprechend 57,1 mg Fe.
28. " "	1,33		10. " "	2,13	
29. " "	2,16		11. " "	0,64	
3. XI. 08	1,22		12. " "	0,60	
5. " "	1,18		13. " "	0,36	
6. " "	1,34		14. " "	0,37	
8. " "	0,84				

Auch bei diesem Hunde verringert sich die Eisenausscheidung im Harn beim Übergange von Fleisch- zur Brotkost. Der Durchschnittswert beim Fleischharn betrug **2,52 mg Fe pro die** und ist herabgegangen auf **1,06 mg Fe pro die**.

Also können wir folgende zwei Sätze aufstellen:

1. Beim Hunde schwankt die Eisenausscheidung im Harn mit der Ernährung in dem Sinne, das sie bei Brotkost herab- und bei Fleischkost in die Höhe geht.

2. Unter allen Umständen ist die durch den Harn weggehende Eisenmenge ein winziger Bruchteil der durch den Darm zur Ausscheidung gelangenden Eisenmenge.

2. Steigerung beim Hammel durch Heufutter.

Bei meinen Untersuchungen einiger Portionen Hammelharn fiel mir auf, daß die Werte der zuerst verarbeiteten Tagesmengen etwas höher zu sein schienen als die der letzten. Die ersten 6 Portionen stammten von 2 Hammeln, die sich, wie schon erwähnt, im Stoffwechselversuch in der hiesigen landwirtschaftlichen Versuchsanstalt befanden. Sie wurden ganz gleichmäßig ernährt; jedes Tier bekam 1000,0 g Kleeheu und 8,0 g Kochsalz täglich. Die vier zuletzt verarbeiteten Harnmengen stammen von denselben Tieren, aber aus einer Zeit, wo sie mit Sojapreßkuchen gefüttert wurden.

Hammelharn bei

Kleeheufütterung	Preßkuchenfütterung
I. in 728 ccm 2,85 mg Fe;	I. in 1050 ccm 1,23 mg Fe;
II. in 775 „ 2,97 „ „	II. in 1070 „ 2,09 „ „

Leider ist die Zahl der Analysen viel zu gering, um einen sicheren Schluß zuzulassen. Es ist allerdings durch neuere Untersuchungen festgestellt, daß das Chlorophyll mit dem Hämatoporphyrin in nahem Zusammenhange steht, indem sich aus dem Chlorophyll Phylloporphyrin leicht bilden läßt, das dem Hämatoporphyrin nahe verwandt ist. Es ist naheliegend, anzunehmen, daß der Pflanzenfresserorganismus aus dem Chlorophyll unter Anlagerung von Eisen und Eiweiß synthetisch Blutfarbstoff aufbaut, und daß daher mit Heu und noch besser mit Grünfutter genährte Tiere mehr Blutfarbstoff bilden als chlorophyllfrei genährte Pflanzenfresser. Ob bei Fleischfressern und beim Menschen ebenfalls aus Chlorophyll und Eisen ein leichter Aufbau von Blutfarbstoff vor sich geht, ist fraglich. Hier kommt der Blutfarbstoff der Nahrung und seine Abbauprodukte bis zum Hämatin wohl in erster Linie in Frage. Die

Eisenausscheidung im Harn hängt offenbar hauptsächlich vom Blutfarbstoff ab und geht seinem Abbau proportional.

Zu den Ergebnissen der Untersuchung des Harns der Hammel bei verschiedenem Futter stimmt das Resultat einer Harnuntersuchung an den bereits S. 114 erwähnten Kaninchen, die, nachdem sie eine Zeitlang Rübenfutter erhalten hatten, Grasfutter bekamen; ich fand für die beiden Tiere 5,91 mg Fe in einer Tagesportion, während der Durchschnitt von 10 Rübenfuttertagen für beide nur 2,18 mg Fe pro die betragen hatte. Ich bemerke dazu, daß auch die Rüben keineswegs etwa besonders eisenarm sind.

3. Arzneiliche Steigerung.

Über die Frage nach der medikamentösen Steigerung des Harneisens finden sich einige Angaben in der Literatur, auf die ich hier jedoch nicht eingehen will, weil die kritische Deutung derselben ein sehr langes Kapitel erfordern würde. Ich bemerke nur, daß diese Frage eine recht interessante ist, zu der es wünschenswert ist, noch viele Beiträge zu liefern. Meine eigenen hierher gehörigen Versuche sind die folgenden.

a) Eisenfütterung bei Brotkost.

Der Hund der S. 135 erwähnten Versuchsreihe bekam ja vom 8. I. 08 anstatt Rindermagen täglich 1000 g Brot. Dabei war die Eisenausscheidung im Harn von 3,94 mg pro die im Durchschnitt auf 0,32 mg Fe pro die gesunken. Nun bekommt der Hund an 4 aufeinander folgenden Tagen, nämlich vom 9. II. bis 12. II., je 1 g Hämatin aus Pferdehämoglobin, nach meinen eigenen Analysen entspr. 4×66 mg Fe, also ein fest gebundenes Eisen in animalischer Form. Die Tabelle auf folgender Seite zeigt deutlich die Wirkung.

Der Durchschnittswert dieser Tabelle, 0,74 mg Fe pro Tag, zeigt, verglichen mit dem Durchschnittswert bei Brotkost vor der Eisenfütterung, nämlich 0,32 mg Fe pro Tag, eine Steigerung von 130%, liefert also unzweifelhaft einen Beweis für die teilweise Resorbierbarkeit des Hämatins und Ausscheidung des darin enthaltenen Fe-Komplexes durch die Nieren, vorausgesetzt, daß der Hund Brotkost bekommt. Offenbar ist das Eisen des Hämatins leichter für die Darmzellen resorbierbar als das reichlich vorhandene Eisen des groben Brotes,

von dem täglich 76,1 mg zugeführt wurden. Um die Resorbierbarkeit des Hämatineisens ist lange Zeit gestritten worden. Ich glaube, daß dieser Streit auch durch meine Versuche wieder in dem Sinne von Kobert und seinen Schülern entschieden worden ist, daß das Hämatin bei geeigneter Versuchsanstellung teilweise resorbierbar ist. Unresorbiertes Hämatin fand sich im Kot des Tages nach der letzten Eisenfütterung 0,8362 g. Fast 10 % des in Form von Hämatin resorbierten Eisens wurden binnen der ersten 14 Tage durch den Harn wieder ausgeschieden. Aber auch die darauffolgenden 14 Tage zeigen immer noch eine deutliche Nachwirkung der Hämatinfütterung.

Tabelle XVIII.

Tag	Datum	Menge des Harneisens in 24 Std.	Bemerkungen
1.	9. II. 08.	bis zum 8. II. täglich im Durchschnitt 0,32 mg Fe	1 g Hämatin + 1000 g Brot
2.	10. „ „		1 g „ + 1000 g „
3.	11. „ „	1,26 „ „	1 g „ + 1000 g „
4.	12. „ „	0,73 „ „	1 g „ + 1000 g „
5.	13. „ „	0,78 „ „	nur 1000 g Brot
6.	14. „ „	0,50 „ „	„ „ „
7.	15. „ „	0,45 „ „	„ „ „
8.	16. „ „	0,56 „ „	„ „ „
9.	17. „ „	0,45 „ „	„ „ „
10.	18. „ „	0,36 „ „	„ „ „
11.	19. „ „	0,31 „ „	„ „ „
12.	20. „ „	0,53 „ „	„ „ „
13.	21. „ „	0,68 „ „	„ „ „
14.	22. „ „	1,80 „ „	„ „ „
15.	23. „ „	1,17 „ „	„ „ „
16.	24. „ „	0,87 „ „	„ „ „

Durchschnitt: 0,74 mg Fe pro 24 Stunden.

Tabelle XIX.

Tag	Datum	Resultat mg Fe	Tag	Datum	Resultat mg Fe	Bemerkung
1.	25. II. 08	0,28	8.	3. III. 08	0,60	Der Hund bekommt täglich 1000 g Brot
2.	26. „ „	0,36	9.	4. „ „	0,37	
3.	27. „ „	1,03	10.	5. „ „	1,12	
4.	28. „ „	0,36	11.	6. „ „	0,78	
5.	29. „ „	0,90	12.	7. „ „	0,11	
6.	1. III. „	1,45	13	8. „ „	0,86	
7.	2. „ „	0,93		„ „		

Durchschnitt dieser 2 Wochen: 0,70 mg Fe pro 24 Stunden.

Leider mußte ich hier den Versuch abbrechen, weil der Hund jetzt profuse Durchfälle bekam, was ich sofort am Emporschnellen der Eisenwerte unter Einfluß des Darmkatarrhs merkte; Durchschnitt dieser 8 Tage 2,09 mg Fe pro 24 Stunden.

b) Eisenfütterung bei Fleischkost.

Diese Versuchsreihe ist an dem zweiten der von mir benutzten Hunde in der Weise angestellt, daß er täglich 1500 g Rindermagen und 1 l H_2O bekommt. An 7 Tagen bekommt er dann täglich 3 g Hämogallol unter die Nahrung gemischt. Hämogallol entsteht, wenn konzentrierte Lösung von roten Blutkörperchen mit konzentrierter Lösung von Pyrogallol versetzt und der entstehende Niederschlag mit sauerstofffreiem Wasser gewaschen wird, bis alles Pyrogallol entfernt ist. Das weiter unten erwähnte Hämol entsteht, wenn die Zinkverbindung des Blutfarbstoffs, das sog. Zinkparhämoglobin oder Zinkkathämoglobin, von Zink wieder befreit wird. Der Fe-Gehalt beider Präparate ist etwas geringer als der des Hämoglobins.

Tabelle XX.

Tag	Datum	Menge ccm	Resultat mg Fe	Bemerkungen
1.	8. VII. 09	720	0,92	1500 g Magen + 1 l H_2O täglich bis 1. VIII.
2.	9. „ „	670	0,67	
3.	10. „ „	800	1,08	3 g Hämogallol mit Ausnahme des 11. VII. täglich bis 17. VII.
4.	12. „ „	950	1,46	
5.	16. „ „	470 [1])	0,61	
6.	19. „ „	920	1,03	[1]) Fast die Hälfte der Tagesmenge ging verloren, so daß die 24 stündige Eisenmenge wesentlich höher liegt als die von mir in 470 ccm gefundene.
7.	20. „ „	1000	0,79	
8.	21. „ „	920	0,92	
9.	22. „ „	660	0,79	
10.	23. „ „	1120	0,97	
11.	30. „ „	930	0,92	
12.	1. VIII. „	930	0,92	

Durchschnitt: 0,92 mg Fe pro 24 Stunden.

Diese Tabelle läßt verschiedene Deutungen zu. Aber selbst wenn wir die für das Mercksche Handelspräparat ungünstigste Deutung herauslesen, nämlich daß die Menge des Harneisens nach der Fütterung mit Hämogallol nicht einmal den Durch-

schnittswert der Normaleisenausscheidung beim Hund, d. h. 1 mg Fe pro 24 Stunden erreichte, erschüttert dies keineswegs meine für die Resorbierbarkeit des aus dem Blutfarbstoff stammenden Eisens beigebrachten Beweise, sondern zeigt nur, daß man den Versuch unter geeigneten Bedingungen anstellen muß, um ein eindeutiges, schlagendes Resultat zu bekommen, d. h. man muß den Hund längere Zeit mit einer von Blutfarbstoff und seinen Derivaten ganz freien Nahrung füttern, wenn man die Resorbierbarkeit des Hämoglobins, Hämatins, Hämols, Hämogallols usw. nachweisen will. Eisenfrei braucht diese Kost keineswegs zu sein.

Da das Eisen im Hämatin fest gebunden ist, wird es leicht begreiflich, daß bei Darreichung von Hämatin, Hämol und Hämogallol die Menge des locker gebundenen Harneisens beim Hund wenigstens zunächst keine Änderung erfährt. Ich führe zum Beweis dafür einen Versuch von Hueck an. Sein Hund bekam täglich ein gleiches Quantum ausgewaschenen Kälbermagens. Hueck fand bei 13 Analysen des täglichen Harns dieses Tieres als Durchschnitt des Wertes für das 24stündige **locker gebundene Eisen 0,166 mg Fe.** An drei aufeinander folgenden Tagen werden nun dem Futter je 3,3 g Hämogallol zugefügt. In den darauffolgenden beiden Wochen enthält der Harn im Durchschnitt **0,155 mg locker gebundenes Eisen.** An drei weiteren Tagen bekommt der Hund wiederum ein Eisenpräparat bei sonst gleichbleibender Nahrung, diesmal je 3,3 g Hämol. Der Harn der nächsten beiden Wochen zeigt eine tägliche Ausscheidung von **0,129 mg locker gebundenem Eisen.** An zwei nun folgenden Tagen erhält der Hund je 5 g Ferrum oxyd. sacch., worin im ganzen 300 mg Fe enthalten sind. Das Harneisen zeigt in den nächsten Tagen einen Durchschnittswert von **0,098 mg Fe in lockerer Bindung.** Betreffs des Verhaltens bei längerer Darreichung bei Hund und Mensch bedarf es weiterer Versuche.

Aus Vorstehendem läßt sich die Schlußfolgerung ziehen, Darreichung mäßiger Dosen von Hämogallol, Hämol und Zuckereisen erhöht beim Hund die Ausscheidung des locker gebundenen Eisens in den nächsten Tagen nicht.

c) Wie verhält es sich mit der medikamentösen Harneisensteigerung beim Menschen?

Als Hueck bei seinen Untersuchungen fand, daß im normalen Menschenharn kein locker gebundenes Eisen vorkommt, glaubte er, daß solches vielleicht unter der Wirkung von Eisenpräparaten auftreten könne. Er selbst nahm an 2 Tagen morgens nüchtern je 5 g Ferr. oxyd. sacch. Sein Harn zeigte an diesen und den darauffolgenden Tagen kaum nachweisbare Spuren locker gebundenen Eisens. Der Institutsdiener Wätcke nimmt an einem Tage 0,5 g Hämatin (Merck) und am folgenden 0,6 g Hämatin (Nasse). Der Harn wird analysiert und zeigt keine meßbaren Mengen locker gebundenen Eisens. Ein anderes Mal wurden an 3 Tagen je 3 g Hämogallol verabreicht, aber das locker gebundene Harneisen verhielt sich nicht anders als vor der Eiseneinnahme.

Als Ergänzung der Hueckschen Analysen glaube ich doch, noch einen etwas längeren Versuch gleicher Art, den ich an mir selbst angestellt habe, anführen zu müssen, da ich aus ihm glaube schließen zu dürfen, daß die Frage, ob bei längerer Eiseneingabe im normalen Menschenharn locker gebundenes Eisen auftritt, einer Nachprüfung bedarf. Ich hatte 5 Tage lang morgens ca. 3 g Ferr. oxyd. sacch. in Kakao genommen und untersuchte am 6. Tage etwa 250 ccm vom Morgenharn, der ja naturgemäß konzentriert ist, auf locker gebundenes Eisen, indem ich den mit NH_3 leicht alkalisch gemachten Harn tropfenweise zu kochendem Schwefelammonium zugab. Zu meiner größten Überraschung zeigte die Titration des entstandenen Niederschlages die Anwesenheit von mehr als 2,0 mg locker gebundenen Eisens. Selbstverständlich bin ich weit davon entfernt, aus diesem einen Versuche eine Schlußfolgerung zu ziehen. Ich führe ihn nur an, um zu zeigen, daß diese Eisenversuche sämtlich möglichst ausgedehnt zu wiederholen sind.

Über das Verhalten des Gesamteisens beim Menschen bei Eiseneingabe liegen Angaben z. B. von Gottlieb[1]) vor, der, nach der Methode der trockenen Veraschung und gewichtsanalytischen Bestimmung als Mittelwert für die tägliche Eisen-

[1]) R. Gottlieb, Beiträge zur Kenntnis der Eisenausscheidung durch den Harn. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 26, 139, 1889.

ausscheidung im normalen Menschenharn 2,59 mg Fe schwankend von 1,59 bis 3,69 mg Fe fand. Nun führt Verf. einen höchst merkwürdigen Befund an. Er sagt nämlich, daß nach einer dreitägigen Einnahme von je 0,2 g Ferr. citr. der Eisengehalt der Harnasche allmählich bis auf 0 gesunken wäre. Nach Aussetzen der Eisendarreichung sei ein Ansteigen zur Norm eingetreten.

Zu diesem Resultat paßt das Ergebnis der Untersuchungen Kumbergs (l. c.), der zu dem Schluß kommt, daß eine Steigerung der Eisenausscheidung gesunder Menschen im Harn durch kurze innerliche Darreichung von Ferrum carbonicum saccharatum und Ferrum citricum oxydatum in medizinischen Dosen in den nächsten Tagen nicht eintritt.

Busch (l. c.) konnte nach Einnahme von 68 mg Fe in Form von Eidottereisen keine Steigerung des Harneisens nachweisen.

Wohl aber berichtet Damaskin (l. c.), daß bei einem anämischen Patienten von 14 mg subcutan eingespritzten Ferr. citr. oxyd. 5,6 mg = 40,18% im Harn unverändert, d. h. ohne eine organisch feste Bindung eingegangen zu sein im Harn, rasch wieder ausgeschieden wurden. Er sagt dazu: „Meine Versuche zeigen also, daß die Befürchtung Koberts, es möchte das eingespritzte Eisen selbst bei Verwendung ganz geringer Mengen bei Patienten ungebunden, d. h. in einer der Niere sehr gefährlichen Form zur Ausscheidung gelangen, in der Tat richtig ist."

Auch die Resultate späterer Untersuchungen von Jacobj, Marfori, Jaquet und Kundig, Lapicque und Woltering[1]) zeigen, daß durch die Nieren wenigstens von dem per os eingeführten Eisen nur ein kleiner Bruchteil wieder ausgeschieden wird, und zwar nur in organisch gebundener Form, ein erheblicher Teil dagegen von dem subcutan injizierten oder direkt in die Blutbahn gebrachten Eisen.

Gesamtresultate.

Die Gesamtresultate lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Es ist für eine Reihe verschiedener Tierarten und für den Menschen erwiesen, daß stets im 24stündigen Harn meßbare, aber nicht alle Tage gleich große Mengen von Eisen ausgeschieden werden.

2. Die chemische Zusammensetzung dieser Eisenverbindung ist uns nicht bekannt. Nur so viel wissen wir, daß das Harn-

---

[1]) Woltering, Über die Resorbierbarkeit d. Eisensalze. Zeitschr. f. physiolog. Chem. 21, 186, 1896.

eisen des normalen Menschen nicht als unorganisches Eisensalz im Harn erscheint, sondern in nicht ionisierter Form in organischer Bindung.

3. Diese unbekannte organische Eisensubstanz gehört zu den Kolloiden.

4. Man darf daher bei Eisenbestimmungen den Harn vorher durch 24stündige Dialyse von einer Unmenge die Verarbeitung erschwerenden krystallisierbaren Substanzen befreien. Daß krystalloide Stoffe unter Umständen imstande sind, kolloide mit in das Dialysat hinüberzureißen, weiß ich wohl. Ich will deshalb die Dialyse auch nur so ausgeführt wissen, wie ich sie benutzt habe.

5. Das organisch gebundene Harneisen hat sich im normalen Harn verschiedener Tierarten (Hund, Kaninchen, Rind, Hammel, Ziege) als aus zwei nicht gleichwertigen Komponenten zusammengesetzt erwiesen; ein Teil des Gesamteisens erscheint dort in Form des „locker“ organisch gebundenen Eisens, d. h. es läßt sich durch Kochen mit Schwefelammonium leicht aus seiner organischen Bindung abspalten, der andere Teil in Form des fest gebundenen Harneisens, d. h. es läßt sich nur in der Harnasche nachweisen.

6. Die Menge des locker gebundenen Eisens scheint im 24stündigen Harn der Pflanzenfresser größer zu sein als in dem der Fleischfresser, jedoch schwankt sie bei beiden.

7. Die Normalzahl für das Gesamteisen eines etwa 20 kg schweren Hundes beträgt etwa 1 mg Fe für 24 Stunden. Sie schwankt erheblich gerade beim Hunde mit der Ernährung in dem Sinne, daß sie bei Brotkost herab- und bei Fleisch- und Blutkost in die Höhe geht.

8. Im normalen menschlichen Harn kommt locker gebundenes Eisen meist nicht in meßbaren Mengen vor, das Harneisen wird bei uns vielmehr als fest gebundenes ausgeschieden. Die Normalzahl für das Harneisen des normalen Menschen ist etwa 1 mg pro 24 Stunden bei gemischter, blutarmer Kost.

9. Im menschlichen Harn tritt bei einer Reihe von Krankheiten neben dem fest gebundenen, pathologi-

scherweise locker gebundenes Eisen auf. Bei einigen Krankheiten finden wir das Gesamteisen im Harn gesteigert, und zwar bei Blutkrankheiten hauptsächlich durch Auftreten von locker gebundenem Eisen. Dieser locker gebundene Eisenkomplex des Harns bei Blutkrankheiten (namentlich perniziöse Anämie) enthält das Fe etwa in gleich lockerer Bindung wie das Hämosiderin.

10. Durch Grünfutter scheint man beim Hammel und Kaninchen eine Steigerung der Menge des Harneisens hervorrufen zu können.

11. Eine Steigerung durch gewisse per os verabreichte arzneiliche Blut-Eisenpräparate läßt sich beim eisenarm ernährten Hunde und beim Menschen bei längerer Dauer der Einnahme hervorrufen.

12. Zwar kann durch Subcutaninjektion selbst kleiner Dosen offizineller Präparate des Eisens bei Tier und Mensch rasch eine vermehrte Ausscheidung von Harneisen hervorgerufen werden, aber meist nur unter Schädigung des Nierenepithels.

Vorstudien über Gicht. II.

Zugleich eine Erwiderung an Herrn Dr. Gudzent.

Von

H. Bechhold und J. Ziegler.

(Eingegangen am 27. Januar 1910.)

In unserer ersten, im August v. J. erschienenen Veröffentlichung[1]) brachten wir neben zahlreichen anderen experimentellen Feststellungen zum erstenmal den Nachweis, daß Mononatriumurat in Serum weit schwerer löslich ist als Harnsäure, während doch in Wasser die Verhältnisse umgekehrt liegen. Auf Grund dessen fragten wir uns, in welcher Form die Harnsäure im Organismus auftritt und schrieben (l. c. S. 203): „Beim Durchblättern der Literatur findet man unzählige Angaben über den „Harnsäuregehalt“ in allen möglichen Organen und bei allen denkbaren Diäten; aber ob es sich um die freie Harnsäure oder um Urate handelt, darüber findet sich meist kein Wort. Und doch ist das der springende Punkt der ganzen Frage.“ Und etwas weiter unten: „Und es handelt sich zweifellos um Urate.“

Kurze Zeit nachher erschien eine Veröffentlichung von Gudzent[2]), die als eine Bestätigung unserer bezüglichen experimentellen Ergebnisse angesehen werden muß und sie theoretisch in manchen Punkten begründet. Gudzent macht darauf aufmerksam, daß die Dissoziationskonstante der Harnsäure größer ist als die der Kohlensäure, daß somit in einem

[1]) Vorstudien über Gicht. Diese Zeitschr. 20, 189, 1909.

[2]) Med. Klinik, 12. Sept. 1909. Der wesentliche, etwas erweiterte Inhalt dieser Veröffentlichung erschien noch einmal in der Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, Heft 6.

künstlichen Serum, das $NaHCO_3$ enthält, sich Mononatriumurat bilden muß.

Auf Grund dieser Tatsache glaubt Gudzent alle bezüglichen Erscheinungen restlos erklären zu können. Für ihn stehen die Eigenschaften der wässerigen Salzlösungen im Vordergrund, und alles, was nicht in dieses Schema paßt, wird kurz mit dem Wort „Übersättigung" abgetan; in diesem Sinne spielen die kolloiden Bestandteile des Serums eine ganz nebensächliche Rolle, und von diesem Standpunkt unterzieht Gudzent unsere Arbeit einer Kritik.[1])

Zu der von Gudzent vertretenen einseitigen Ansicht können wir uns nicht bekennen und wollen daher hier ganz kurz, in einer späteren Arbeit ausführlich, die Frage einer Prüfung unterziehen:

Welche Rolle spielen die kolloiden Bestandteile des Serums bei der Lösung von Harnsäure und ihren Salzen?

Vergleichen wir zunächst die Zahlen für die Löslichkeit von Mononatriumurat in Pferdeserum und in künstlichem Serum (das die Serumsalze und ev. auch 2°/₀ Gummi arabic. als Kolloid enthält) mit den theoretisch berechneten, wie sie von einer Lösung nur mit dem Salzgehalt des Serums gefordert werden:

		Löslichkeit
Gudzent fand	in natürl. Serum	5 mg in 100 ccm
Wir fanden	„ „ „	2,5 „ „ 100 „
Gudzent fand	„ künstl. „	7,1 „ „ 100 „
Die Theorie erfordert	„	8,3 „ „ 100 „

Jeder Vorurteilsfreie wird aus diesen Zahlen schließen, daß die experimentellen Ergebnisse die von Gudzent a priori angenommene Theorie absolut nicht stützen; Gudzent aber findet die Übereinstimmung eine gute, nachdem er noch einen „Sicherheits"-Koeffizienten von 30°/₀ einfügt. Ein Blick auf die Zahlen zeigt, daß Herr Gudzent über 40°/₀ zu dem experimentell gefundenen Wert zuschlagen muß, um die „gute Übereinstimmung" zu finden.

Auf diese Art läßt sich natürlich alles beweisen!

---

[1]) Diese Zeitschr. 23, 275, 1909.

Sehen wir uns nun die Zahlen für die Löslichkeit von Harnsäure in Serum an. Einige Ergänzungen unserer experimentellen Ergebnisse seien vorangeschickt:

Schüttelt man überschüssige Harnsäure in Serum 1 bis 2 Stunden bei 37°, filtriert und läßt das Filtrat bei 37° stehen, so findet man nach 24 Stunden einen aus nadelförmigen Gebilden bestehenden Bodensatz. Über die Natur dieses Bodenkörpers waren wir zur Zeit unserer ersten Veröffentlichung noch nicht sicher, wir schrieben deshalb S. 192:

„Wenn wir im folgenden den ausgefallenen Bodenkörper als „Harnsäure“ bezeichnen, so geschieht dies nur der Kürze halber, ohne damit ein Urteil über die wahre Natur des Bodenkörpers präjudizieren zu wollen.“

Damit erledigen sich wohl sämtliche kritischen Bemerkungen, die Gudzent an unseren Ausdruck „Harnsäure“ knüpft.

Wir haben uns davon überzeugt, daß der Bodenkörper im wesentlichen aus Mononatriumurat besteht. Es zeigte sich, daß Mononatriumurat zwischen gekreuzten Nicols das polarisierte Licht bei ca. 22° auslöscht, und daß die aus Serum (nach Lösung von Harnsäure) sich ausscheidenden Nadeln die gleichen krystallographischen Eigenschaften haben.

Wir prüften in dieser Richtung Ochsen-, Pferde- und Menschenserum. — Im Menschenserum zeigten sich neben den Nadeln noch plättchenartige Gebilde ohne bestimmte Umrisse, die somit krystallographisch nicht bestimmbar waren.[1])

Eine Natriumbestimmung ergab:

Gefunden	13,44 %
Berechnet	12,11 %

Die Übereinstimmung ist keine sehr gute, aber immerhin eine genügende, wenn man berücksichtigt, mit welchen Schwierigkeiten die Isolierung verbunden ist.

Löst man in Serum, das durch sterile 14tägige Dialyse gegen destilliertes Wasser erhalten ist, Harnsäure bis zur Sättigung und läßt das

---

[1]) Für die im mineralogisch-geologischen Institut der Universität Würzburg ausgeführten Untersuchungen schulden wir dem Direktor Herrn Prof. Dr. Beckenkamp sowie seinem Assistenten Herrn Dr. Heimbucher wärmsten Dank; ebenso der Firma Carl Zeiß in Jena, die uns durch Überlassung von Polarisationsinstrumenten unterstützte.

Filtrat 24 Stunden bei 37° stehen, so findet man entweder keinen Bodensatz oder nur eine geringe Ausscheidung der bekannten Harnsäuretäfelchen. Setzt man zu dieser Lösung $NaHCO_3$, so erhält man einen Niederschlag von Mononatriumurat. Das gleiche erfolgt, wenn man Serum durch wiederholtes Übersättigen mit Harnsäure und Abfiltrieren (zirka 4mal) von den ausgeschiedenen Nadeln erschöpft und schließlich $NaHCO_3$ zusetzt.

Auf Grund dieser Versuche können wir bestätigen, daß der Bodenkörper Mononatriumurat ist.

Sehen wir uns nun die Zahlen für die Löslichkeit etwas näher an:

Nach unseren früheren Versuchen[1]) löst sich Harnsäure in gefülltem Serum 1 : 1925 oder 52 mg in 100 ccm. Diese Zahl liegt unter der von Taylor[2]), und selbst Gudzent findet noch bei 22stündigem Lösen 90 mg in 100 ccm Serum, also 1 : 1111 [fast genau wie unser überfülltes Serum (1 : 1100, l. c. S. 194)]. D. h. mindestens 52 mg der eingebrachten Harnsäure bleiben in 100 ccm Pferdeserum gelöst und fallen selbst nach wochenlangem Stehen nicht oder nur in Spuren aus. — Wir konnten in dieser Weise mit Harnsäure gefülltes Serum 5 Wochen lang beobachten, das sich nach dieser Zeit noch als steril erwies. Wir wollen nun von der wahrscheinlichen, aber noch keineswegs exakt bewiesenen Voraussetzung ausgehen, daß sämtliche in Serum gelöste Harnsäure in Mononatriumurat übergegangen ist, so sind in 100 ccm Serum in Lösung:

beim Lösen von Harnsäure (aus 52 mg Harnsäure) 58 mg Mononatriumurat,

beim Lösen von Mononatriumurat (nach Dr. Gudzent) 5 mg,

beim Lösen von Mononatriumurat (nach Bechhold und Ziegler) 2,5 mg,

von Gudzent, für die Serumsalze berechnet 8,3 mg.

Es sind also mehr gelöst als nach der Theorie 598%
„ d. Befund von Gudzent 1060%
„ „ „ „ Bechhold und Ziegler 2120%

Nehmen wir aber selbst an, daß sich zunächst die leichter lösliche Lactamform bildet und diese sich noch weit langsamer als Gudzent selbst voraussetzt, in die schwerer lösliche Lactimform umwandelt, so differieren Theorie und experimentelles Ergebnis noch um mehrere hundert Prozent.

Man erreicht also von den beiden Seiten keineswegs dasselbe Lösungsgleichgewicht, wie dies Gudzent irrtümlich annimmt.

---

[1]) Diese Zeitschr. 20, 195, 1909.

[2]) Journ. of Biolog. Chem. 1, 177 bis 183.

Geht man von der a priori gefaßten Meinung aus, „daß die am künstlichen Serum gefundenen Verhältnissse auf das natürliche Serum übertragen werden dürfen", so kommt man zu so unglaublichen Zahlen und Widersprüchen, daß dieser Teil der Beweisführung von Gudzent sich von selbst richtet. Diese Widersprüche werden auch nicht durch das Wort „Übersättigungserscheinungen" beseitigt, ein Wort, das als „Mädchen für alles" dient. Wären die beschriebenen Erscheinungen Übersättigungserscheinungen im üblichen Sinn, so müßte sich, wenn auch langsam, alles überschüssige Natriumurat nach und nach ausscheiden, zumal ja stets einige Krystalle davon als Bodenkörper zugegen sind.[1])

Das ist aber, wie schon gesagt, nicht der Fall. Hier handelt es sich offenbar um Gesetzmäßigkeiten.

Zum Verständnis der Frage seien hier einige Stellen aus der im vergangenen Jahr erschienenen Arbeit von W. Pauli und M. Lameo[2]) angeführt.

Die beiden Forscher haben Löslichkeitsbestimmungen einer Anzahl schwer löslicher Elektrolyte in Rinderserum ausgeführt, das 8 Wochen dialysiert war, und finden, daß Eiweißkörper die Löslichkeit von schwer löslichen Elektrolyten beträchtlich zu erhöhen vermögen.

Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen ist den Gudzentschen Untersuchungen und Darlegungen offenbar nicht mehr der Wert beizumessen, den er selbst ihnen zuschreibt. Bis zu einer vollen Aufklärung der Lösungsvorgänge von Harnsäure und Uraten in Serum bedarf es jedenfalls noch zahlreicher Studien, mit denen wir beschäftigt sind.

Die von Gudzent gewählte Art und Form der Kritik richtet sich von selbst. Zur Charakteristik sei noch eine Probe aus der „Zusammenfassung" am Schluß angeführt, wobei betont werden möge, daß in seiner ausführlichen Arbeit, die Ende November oder Anfang Dezember erschien, unsere Ende

[1]) „Bringt man eine übersättigte Lösung mit einer kleinen Menge des festen Stoffes in Berührung, so vergrößert sich diese so lange, bis die niedrigere Konzentration der Sättigung eingetreten ist" (Ostwald, Grundriß der allgem. Chem. 1909, S. 363, 364).

[2]) Löslichkeitsbeeinflussung von Elektrolyten durch Eiweißkörper. I. Diese Zeitschr. 17, 235 bis 256.

August erschienene Veröffentlichung mit keinem Wort erwähnt wird.

Aus Bechhold und Ziegler:

Vorstudien über Gicht. Diese Zeitschr. 20, 213 (erschien Ende August 1909).

„Aus den im Text angeführten Zahlen zeigt sich, daß das Blut der Gichtiker, im Gegensatz zu den bisherigen Annahmen, oft mit Uraten übersättigt ist, und es ergeben sich Anhaltspunkte für die Ausscheidungsbedingungen der Urate."

Aus Gudzent:

Physikalisch-chemisches Verhalten der Harnsäure und ihrer Salze im Blut. Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 477 (erschienen Ende November oder Anfang Dezember 1909).

„Durch den Nachweis, daß das Blut unter gewissen Umständen, vorzugsweise bei der Gicht, mit Mononatriumurat übersättigt sein kann, ist eine mögliche Erklärung für das Ausfallen von Urat in die Gewebe gegeben."

Elektrolytischer Abbau von Mono- und Disaccharidsäuren sowie von Oxyaminosäuren.

Von

C. Neuberg, L. Scott und S. Lachmann.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

Die synthetische Wirkung der elektrischen Energie ist mehrfach zur künstlichen Darstellung von Substanzen aus der Kohlenhydratreihe benutzt worden. An die Namen von Berthelot, Thénard, Brodie, Maquenne, Losanitsch und Jovitschitsch, Butlerow, Loeb knüpfen sich die Versuche, einfache Körper, wie Kohlendioxyd und Wasserstoffgas bzw. Formaldehyd, mit Hilfe der sogenannten dunklen elektrischen Entladungen zu zuckerähnlichen Verbindungen zu kondensieren.

Da auch die rein chemische Synthese der Zuckerarten über den Formaldehyd führt (Butlerow, E. Fischer, O. Löw, Tollens), so hat Berthelot die elektrischen Kondensationsreaktionen mit dem Prozesse der Kohlensäureassimilation in den Pflanzen in Beziehung gebracht.

Zwar ist es zweifelhaft, ob diese Form der elektrischen Energie heutzutage oder jemals früher am eigentlichen Assimilationsvorgange beteiligt ist oder war; immerhin muß man anerkennen, daß bei den dunklen elektrischen Entladungen Kräfte wirksam sind, die mit der Sonnenstrahlung als Energiequelle eine größere Ähnlichkeit haben als die sonst angewandten Laboratoriumshilfsmittel.

Im Zusammenhange hiermit ist es bemerkenswert, daß man auch umgekehrt mit Hilfe der elektrischen Energie von den höheren zu den niederen Zuckern gelangen kann. Eine

solche Molekülverkleinerung findet gleichfalls in der belebten Natur häufig statt, z. B. bei der alkoholischen Gärung, der Bildung von Milchsäure und verwandten Produkten aus den Zuckerarten sowie bei den durch pflanzenphysiologische Untersuchungen wahrscheinlich gemachten Verwandlungen von Hexosen in Pentosen u. a. m.

Das Verfahren, über das C. Neuberg[1]) bereits kurz berichtet hat, besteht darin, daß man die Säuren der Kohlenhydrate der Elektrolyse unterwirft; dabei gehen dieselben ganz allgemein unter Abspaltung von Kohlensäure und Wasserstoff in den um ein Kohlenstoffatom ärmeren Zucker über, nach der Gleichung:

$$CH_2OH - (CHOH)_n - CHOH - COOH \rightarrow$$
$$CH_2OH - (CHOH)_n - CHO$$

Nach diesem Verfahren konnte der Abbau sukzessive von der Glucoheptonsäure bis zum Formaldehyd durchgeführt werden.

Im folgenden sei über die Elektrolyse der d-Galactonsäure, der d, l-Erythronsäure, der d, l-Glycerinsäure sowie der Glykolsäure berichtet. Die dabei entstehenden Produkte (d-Lyxose, d, l-Glycerinaldehyd, Glykolaldehyd und Formaldehyd) sind alle bereits auf anderen Wegen erhaltene und bekannte Körper, so daß hier eine Charakterisierung durch geeignete Derivate ausreichend war.

Die Elektrolyse stellt ein vom theoretischen Standpunkte aus sehr einfaches Verfahren des chemischen Abbaues in der Kohlenhydratreihe dar, bietet aber in präparativer Hinsicht keine Vorteile vor den rein chemischen Methoden.

Ferner war von Interesse, festzustellen, ob die wichtigen Aminoderivate der Zucker in Form der entsprechenden Oxyaminosäuren gleichfalls des elektrischen Abbaues fähig waren, ferner wie sich in dieser Hinsicht die komplizierter gebauten Säuren der Disaccharide verhielten. Die erstgenannte Gruppe gelangte in Form der beiden isomeren Aminoderivate der Glycerinsäure, des Serins und Isoserins, zur Verwendung, als Vertreter der zweiten wurde die Melibionsäure geprüft.

Es zeigte sich, daß die genannten Oxyaminosäuren prinzipiell in der gleichen Weise wie die Kohlenhydratsäuren durch den

---

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 7, 527, 1908.

elektrischen Strom sich abbauen lassen, d. h. es entsteht in beiden Fällen eine Substanz der Zweikohlenstoffreihe, Glykolaldehyd[1]) bzw. ein Derivat desselben, der Aminoacetaldehyd. Der letztere ist zwar bei seiner bekannten Empfindlichkeit aus dem Reaktionsgemische in Substanz nicht zu isolieren, doch läßt sich sein Nachweis neben unverändertem Isoserin und dessen Zersetzungsprodukten, wie Neuberg[2]) gezeigt hat, leicht und unzweideutig durch Überführung in Pyrazin nach der Gabrielschen[3]) Methode der Oxydation mittels Quecksilberchlorid und Natronlauge führen:

$$\begin{matrix} CH_2NH_2 \\ | \\ CHO \end{matrix} + \begin{matrix} CHO \\ | \\ CH_2NH_2 \end{matrix} + O = 3H_2O + \text{Pyrazin } (C_4H_4N_2:\ N\langle CH{=}CH,\ CH{=}CH \rangle N)$$

Diese elektrolytische Gewinnung stellt eine neue Bildungsweise des Aminoacetaldehyds dar, von denen nunmehr 6 bekannt sind, nämlich:

1. Aus dem Aminoacetal durch Hydrolyse (E. Fischer[4]);
2. aus dem Allylamin durch Ozon (Harries und Reichard[5]);
3. durch Reduktion des Glykokollesters mit Natriumamalgam [(Neuberg[6]) sowie E. Fischer[7])];
4. und 5. durch Abbau von Isoserin und Diaminopropionsäure mit Hydroperoxyd[8]);
6. durch Elektrolyse.

---

[1]) Beim Serin verläuft die Reaktion unter Ammoniakabspaltung, es findet also gleichfalls eine hydrolytische Desamidierung statt nach dem Schema:

$$\begin{matrix} CH_2OH \\ CHNH_2 \\ COOH \end{matrix} + H_2O \longrightarrow \underbrace{CO_2 + H_2}_{\text{bzw. } H\cdot COOH} + NH_3 + \begin{matrix} CH_2OH \\ | \\ CHO \end{matrix}$$

[2]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 20, 531, 1909.

[3]) S. Gabriel, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 26, 2207, 1893.

[4]) E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 26, 92, 464 und 764, 1893.

[5]) C. Harries und Reichard, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, 612, 1904.

[6]) C. Neuberg, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 956, 1908.

[7]) E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 1019, 1908.

[8]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 20, 533, 1909.

Auch bei den Disaccharidsäuren verläuft die Reaktion nach demselben Schema, indem aus der Melibionsäure $C_{12}H_{22}O_{12}$ ein C_{11}-Zucker hervorgeht. Die Melibionsäure selbst ist bis jetzt unbekannt gewesen, sie wurde aus der Melibiose durch Oxydation mit Brom hergestellt und in Form des krystallisierten Calciumsalzes abgeschieden. Die Elektrolyse führt, wie erwähnt, zu einem Zucker der Elf-kohlenstoffreihe; derselbe reduziert die Fehlingsche Lösung. Aber leider ist die Ausbeute an dem erzielten Produkt so gering, daß es nur gelang, das Disaccharid in Form seines gut krystallisierten p-Nitrophenylosazons zu charakterisieren.

Über die Natur dieses C_{11}-Zuckers kann kaum ein Zweifel obwalten. Wie die Melibiose ein Isomeres des Milchzuckers ist, so ist er eine Galactoarabinose so gut, wie der von O. Ruff und G. Ollendorff[1]) aus der Lactobionsäure mittels Wasserstoffsuperoxyd und Ferriacetat erhaltene C_{11}-Zucker, und es läßt sich die Überführung der Melibionsäure in einen um ein Kohlenstoffatom ärmeren Zucker zu ähnlichen Schlüssen über die Konfiguration der Melibiose verwerten, wie sie Ruff und Ollendorff aus dem Abbau der Lactobionsäure für den Milchzucker gezogen haben. Da, wie jedoch erwähnt, die Ausbeute sehr gering war, und das einzige krystallisierte Produkt, das man bisher fassen konnte, das p-Nitrophenylosazon ist, werden derartige Folgerungen besser so lange verschoben, bis noch andere Derivate des neuen C_{11}-Zuckers dargestellt sind. Jedenfalls wird er aber dazu dienen können, die Zahl der Möglichkeiten für die Struktur der Melibiose einzuengen.

Experimenteller Teil.

Für die elektrischen Versuche mit den Säuren der Kohlenhydratreihe eignen sich nicht die meist leicht zugänglichen Erdalkalisalze; denn das durch die Stromeinwirkung gebildete Erdalkalihydroxyd wirkt zersetzend auf die entstandenen Zucker. Dagegen kann man die Schwermetallsalze, soweit sie löslich sind, benutzen. Besonders bequem ist die Anwendung der Kupfersalze, denn in dem Verschwinden der blauen Farbe

---

[1]) O. Ruff und G. Ollendorff, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 1796, 1900.

hat man zugleich einen Indicator für die Beendigung der Elektrolyse.

Diese ist in allen im folgenden beschriebenen Fällen einfach in der Weise ausgeführt, daß der zur Verfügung stehende Straßengleichstrom nach Abschwächung durch eine 16kerzige Glühlampe zur Anwendung kam. Der negative Pol war mit einer geräumigen Platinschale verbunden. Als Anode diente ein horizontal gegenüberstehendes, kreisförmiges Platinblech, das durch einen Platindraht mit dem positiven Pol verbunden war. Der Strom ging durch die in der Schale befindliche Flüssigkeit. Die im folgenden wiedergegebenen Resultate beziehen sich auf diese einfache Anordnung, und ist es sehr wohl möglich, daß sich unter veränderten Bedingungen bessere Resultate erzielen lassen werden.

Aus ähnlichen Gründen kamen auch die Oxyaminosäuren meistens in Form ihrer Kupfersalze zur Anwendung.

a) Elektrolyse der d-Galactonsäure.

Die zu folgenden Versuchen angewandte d-Galactonsäure wurde nach der Vorschrift von Kiliani[1]) aus Milchzucker dargestellt und in der bekannten Weise als Cadmiumsalz isoliert.

8,0 g des letzteren wurden in 250 ccm Wasser gelöst und zur Ausfällung des Cadmiums mit Schwefelwasserstoff behandelt. Das Filtrat vom Cadmiumsulfid wurde durch Eindampfen zunächst vom Schwefelwasserstoff befreit und dann durch Kochen mit Kupfercarbonat in das Kupfersalz verwandelt. Von der erhaltenen Lösung wurden 50 ccm in der angegebenen Weise elektrolysiert. Die Lösung mußte einen Zucker der Fünfkohlenstoffreihe, und zwar d-Lyxose enthalten. Tatsächlich reduzierte sie stark die Fehlingsche Mischung und gab mit Orcin oder Phloroglucin und Salzsäure die bekannte Tollenssche Farbenreaktion auf Pentose.

Die Lyxose selbst ist auf anderem Wege von E. Fischer[2]), A. Wohl und Liszt[3]) sowie von O. Ruff und Ollendorff[4]) dargestellt worden, so daß die Charakterisierung durch ein

---

[1]) H. Kiliani, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 18, 1551, 1885.

[2]) E. Fischer u. Bromberg, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 29, 21, 1896.

[3]) A. Wohl u. Liszt, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 30, 3105, 1897.

[4]) O. Ruff u. Ollendorff, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 1798, 1900.

Osazon ausreichend war. Zu diesem Zwecke wurde die elektrolysierte Flüssigkeit mit überschüssigem essigsaurem Phenylhydrazin auf dem Wasserbade erwärmt; von den in der Hitze abgeschiedenen, z. T. verharzten Flocken wurde abfiltriert und das in der Kälte ausgefallene Osazon zweimal aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert.

Die Verbindung schmolz bei 157 bis 159°; die Analyse zeigte das Vorliegen von Pentosazon.

0,1205 g Subst.: 17,9 ccm N (21°, 761 mm),

$C_{17}H_{20}N_4O_3$: Ber. N = 17,07; gef. N = 17,00%.

Zu dem gleichen Ergebnis führte die Elektrolyse der freien Galactonsäure, (aus 2 g Cadmiumsalz) die 8 Stunden fortgesetzt worden war.

b) Elektrolyse der d, l-Erythronsäure.

Wie in der folgenden Mitteilung[1]) beschrieben werden wird, kann man vom Erythrit aus zu reiner d, l-Erythronsäure gelangen. Aus 15,0 g ihres Calciumsalzes wurde mit etwas überschüssiger Oxalsäure eine Lösung der freien Säure, und aus dieser das lösliche Kupfersalz durch Kochen mit Kupfercarbonat hergestellt. Durch letzteres war der Überschuß der Oxalsäure als unlösliches Kupferoxalat entfernt. Die Elektrolyse des i-erythronsauren Kupfers wurde in der zuvor angegebenen Weise bis zur Ausfällung des Kupfers vorgenommen und gab eine Flüssigkeit, die in der Kälte schon Fehlingsche Lösung reduzierte.

Die Flüssigkeit enthält u. a. inaktiven Glycerinaldehyd, der in Form des Phenylosazons isoliert wurde. Zu diesem Zwecke wurde die Lösung auf ein Volumen von 100 ccm gebracht, mit 5 ccm Phenylhydrazin und 5 ccm 50%iger Essigsäure versetzt und 3 Tage im Brutschranke belassen. Die ausgeschiedenen gelben Krystalle wurden abgesaugt und mehrmals aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert. Ausbeute 1,2 g Osazon, identisch mit dem bekannten Glycerosazon[2]).

Die Verbindung schmolz bei 130 bis 132°.

0,1440 g Subst.: 0,3539 g CO_2; 0,0778 g H_2O,

0,01086 g Subst.: 20,1 ccm N (19°; 758 mm).

$C_{15}H_{16}N_4O$: Ber. C 67,15; H 5,98; N 20,90;

gef. C 67,04; H 6,02; N 21,22.

---

[1]) S. Seite 166.

[2]) E. Fischer und Tafel, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 20, 1088, 1887.

c) Elektrolyse der d,l-Glycerinsäure.

5,0 g Glycerinsäure (käufliches reines Produkt) wurden mit 200 ccm Wasser und mit Kupfercarbonat einige Zeit gekocht und vom Überschuß abfiltriert. Die erhaltene Lösung von glycerinsaurem Kupfer wurde in der mehrfach angegebenen Weise der Elektrolyse unterworfen. Nach beendigter Ausfällung des Kupfers reduzierte die Flüssigkeit stark Fehlingsche Lösung schon bei gelindem Erwärmen. Das Reaktionsprodukt wurde in Form des p-Nitrophenylosazons isoliert. Letzteres war identisch mit der p-Nitrophenylhydrazinverbindung[1]) des Glykolaldehyds. Ausbeute 1,42 g.

0,1204 g Subst.: 0,2248 g CO_2; 0,0430 g H_2O.
0,1238 g Subst.: 27,8 ccm N (22°; 762 mm).
$C_{14}H_{12}N_6O_4$: Ber. C 51,20; H 3,67; N 25,64;
gef. C 51,06; H 3,99; N 25,35.

d) Elektrolyse der Glycolsäure.

Das Kupfersalz der Oxyessigsäure ist in Wasser schwer löslich und deshalb für die Elektrolyse ungeeignet. Darum wurde in diesem Falle die freie Glykolsäure verwendet. 4,0 g der krystallisierten Glykolsäure wurden in 50 ccm Wasser gelöst und 8 Stunden lang elektrolysiert. Die erhaltene Lösung entwickelte beim Erwärmen nach Formaldehyd riechende Dämpfe. Zum sicheren Nachweis dieser Verbindung, neben der jedoch noch andere Produkte gebildet waren, wurde sie mit einer gesättigten Lösung von salzsaurem p-Diphenyldihydrazin ausgefällt. Es resultierten 0,63 g der von C. Neuberg[2]) beschriebenen Diphenylendihydrazinverbindung des Formaldehyds.

0,1053 g Subst.: 22,1 ccm N (19°; 754 mm).
$C_{14}H_{14}N_4$: Ber. N 23,53%; gef. N 23,92%.

---

[1]) A. Wohl und C. Neuberg, Ber. d. Deutsch. chem Ges. 33, 3995, 1900.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 1961, 1899. Bei der Berechnung der Formaldehydmenge aus der Quantität des Hydrazons ist hier (l. c. S. 1964) ein sinnentstellender Irrtum unterlaufen; statt auf Formaldehyd beziehen sich die Zahlen auf Methylen. Es entspricht 1 g Hydrazon 0,1176 g Methylen.

e) Elektrolyse des Serins.

d,l-Serin wurde nach der Vorschrift von Leuchs und Geiger[1]) dargestellt und für die Elektrolyse in das Kupfersalz verwandelt. Zu diesem Zweck wurden 3,0 g Serin in 50 ccm Wasser gelöst, mit Kupfercarbonat im Überschuß versetzt und einige Zeit erwärmt. Dann wurde das nicht gelöste Kupfercarbonat abfiltriert, das Filtrat etwas eingeengt und in der vorher angegebenen Weise elektrolysiert. Nach 7stündiger Elektrolyse war die Flüssigkeit fast farblos. Die letzten Spuren Kupfer wurden durch Einleiten von Schwefelwasserstoff entfernt; ihre Fällung durch den Strom empfiehlt sich hier wie in den meisten analogen Fällen nicht, denn es hat sich herausgestellt, daß hierbei ein nicht unerheblicher Verlust an reduzierender Substanz eintritt. Nach dem Einleiten des Schwefelwasserstoffs wird vom Kupfersulfid abfiltriert und das Filtrat auf das halbe Volumen eingeengt. Während der Elektrolyse des Serinkupfers konnte man eine ziemlich lebhafte Gasentwicklung beobachten, die Flüssigkeit selbst reagierte infolge von Ammoniakabspaltung alkalisch und reduzierte die Fehlingsche Mischung schon in der Kälte. Der entstandene Zucker wurde als p-Nitrophenylosazon abgeschieden.

Zu diesem Zwecke wurde die Flüssigkeit mit einer Lösung von 2 g p-Nitrophenylhydrazin in 50% Essigsäure und etwas Alkohol versetzt und etwa $^3/_4$ Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Hierbei schied sich das Osazon in dunkelroten Flocken aus, die abgesaugt und im Vakuum getrocknet wurden. Zur Reinigung wurden sie in möglichst wenig heißem Pyridin gelöst und aus der filtrierten Flüssigkeit durch Zusatz von Toluol wieder abgeschieden. Durch mehrmalige Wiederholung dieser Operation[2]) wurden 0,560 g einer Verbindung gewonnen, die bei

---

[1]) H. Leuchs und W. Geiger, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 2644, 1906.

[2]) Bei der Elektrolyse sowohl des Serins wie des Isoserins tritt eine Carbonylsäure auf, die in intensiver Weise die Naphthoresorcinreaktion gibt, wie alle derartigen Keton- oder Aldehydsäuren (Mandel und Neuberg, Biochem. Zeitschr. 13, 148, 1908). Es liegt nahe, an eine Säure wie $CH_2OH—CO—COOH$ zu denken. Sie verbindet sich gleichfalls mit p-Nitrophenylhydrazin, und zur Abtrennung dieses Säurederivates ist das mehrfache Umkrystallisieren des Glykolaldehydosazons erforderlich.

309° schmolz und nach dem mikroskopischen Bild aus kleinen Nadeln bestand. Sie war in allen Eigenschaften identisch mit dem von Wohl und Neuberg[1]) dargestellten p-Nitrophenylosazon des Glykolaldehyds.

0,1471 g Subst.: 0,2740 CO_2 und 0,0530 H_2O
0,158 g Subst.: 34,9 ccm N (19°, 762 mm)

$C_{14}H_{12}O_4N_6$: Ber. C = 51,20%; H = 3,67%; N = 25,64%;
gefunden: C = 50,80%; H = 4,00%; N = 25,33%.

f) Elektrolyse des Isoserins.

Es wurde aus 3,0 g Isoserin und 50 ccm Wasser auch hier eine Lösung des Kupfersalzes in der vorher erwähnten Weise hergestellt. Die Elektrolyse wurde 6 Stunden fortgesetzt. Nach dieser Zeit hatte sich die Flüssigkeit fast völlig entfärbt, sie reduzierte die Fehlingsche Mischung und zeigte alkalische Reaktion sowie Ammoniakgeruch. Nach Ausfällung der letzten Spuren Kupfer mittels Schwefelwasserstoff wurde in der angegebenen Weise ebenfalls das p-Nitrophenylosazon dargestellt. Die Ausbeute betrug 0,710 g Osazon, das bei 60° im Vakuum getrocknet wurde und nach mehrmaliger Umfällung bei 311° schmolz.

Die Analyse des Osazons ergab folgendes Resultat:

0,0998 g Subst.: 0,1871 g CO_2, 0,0350 g H_2O.
0,1048 g Subst.: 23,6 ccm N (21°, 756 mm)

$C_{14}H_{12}O_4N_6$: Ber. C = 51,20%; H = 3,67%; N = 25,64%;
gefunden: C = 51,06%; H = 3,89%; N = 25,33%.

Ob der Gehalt der elektrolysierten Lösung an Ammoniak auf eine Desamidierung durch den Strom oder auf eine sekundäre Abspaltung aus dem in freier Form recht unbeständigen Aminoacetaldehyd zurückzuführen ist, muß dahingestellt bleiben.

Unveränderten Aminoaldehyd direkt in Form des von E. Fischer[2]) dargestellten Chloroplatinates nachzuweisen, ist zwar nicht gelungen, aber es war möglich, die Gegenwart von Aminoaldehyd durch Überführung desselben in Pyrazin festzustellen.

---

[1]) l. c.

[2]) E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 26, 92, 1893.

Zu diesem Zwecke empfiehlt es sich, die Elektrolyse nicht mit dem Kupfersalze, sondern mit dem freien Isoserin selbst anzustellen, da allem Anscheine nach die Gegenwart des Kupfers die Loslösung der Aminogruppe als Ammoniak katalytisch begünstigt. Ganz läßt sich freilich eine Ammoniakabspaltung nicht vermeiden.

Es wurden 12,0 g Isoserin in 10%iger Lösung 8½ Stunden elektrolysiert und die stark reduzierende und alkalisch reagierende Flüssigkeit nach der Vorschrift von Gabriel u. Pinkus[1]) mit 50 ccm 33%iger Kalilauge und 30 g Sublimat versetzt und alsdann mit Wasserdampf destilliert. Es geht ein stark alkalisch reagierendes Destillat über, das mit Salzsäure genau neutralisiert und nach Filtration von etwas mitgerissenem, schwammigem, grauem Quecksilber mit konzentrierter Sublimatlösung ausgefällt wurde. Das abgeschiedene Mercurichloriddoppelsalz wurde abgesaugt und von neuem mit Lauge destilliert. Nunmehr geht eine wässerige Pyrazinlösung über, aus der die Base einfach mit Aurichloridchlorwasserstoffsäure gefällt wurde.

Die Ausbeute an dem charakteristisch zusammengesetzten Golddoppelsalz, das nach einmaligem Umkrystallisieren aus heißem Wasser direkt rein war, belief sich nur auf 0,96 g. Hierzu muß bemerkt werden, daß der Ringschluß des Aminoacetaldehyds zum Pyrazin nach den Erfahrungen von L. Wolff[2]), Gabriel u. Pinkus[3]) sowie Neuberg[4]) keineswegs quantitativ vor sich geht.

Analyse:

0,2052 g Subst.: 13,3 ccm N (18°, 763 mm),

0,1569 g Subst.: (bei der Analyse nach O. Wallach[5]) 0,0803 g Au und 0,0440 g Cl (titrimetrisch).

$C_4H_4N_2 . AuCl_3$:

Ber. N = 7,33%; Au = 51,30%; Cl = 27,77%;
gef. N = 7,49%; Au = 51,14%; Cl = 28,02%.

---

1) Gabriel u. Pinkus, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 26, 2207, 1893.
2) Wolff, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 26, 1830, 1893.
3) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 26, 2207, 1893.
4) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 956, 1908.
5) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 14, 753, 1881.

g) Darstellung und Eigenschaften der Melibionsäure.

Die als Ausgangsmaterial dienende Melibiose wurde aus Raffinose durch Spaltung nach bekanntem Verfahren in der Weise dargestellt, daß 100 g Raffinose in 750 g Wasser gelöst, mit 15 ccm Eisessig versetzt und 1 Stunde auf dem Wasserbade auf ca. 80° erwärmt wurden. Die Flüssigkeit, die stark Fehlingsche Lösung reduzierte, wurde zur Sirupdicke eingeengt und mit absolutem Alkohol versetzt. Bei gelindem Erwärmen schied sich eine knetbare Masse aus, die zum größten Teil aus in Alkohol unlöslicher Melibiose bestand, während die ebenfalls bei der Spaltung gebildete Fructose in Lösung ging. Durch wiederholtes Aufnehmen der durch Alkohol ausgeschiedenen Masse in wenig Wasser und Abscheiden mit neuen Mengen Alkohols wurde schließlich ein sehr zäher Sirup von Rohmelibiose erhalten, der nur noch eine schwache Reaktion mit Resorcin und Salzsäure auf Fruchtzucker gab. Durch Lösen in Wasser und Versetzen mit einigen Impfkrystallen ging die sirupartige Melibiose in einigen Wochen in das krystallisierte Produkt über. Für die Darstellung von Melibionsäure ist jedoch die, wie oben angegeben, dargestellte sirupöse Melibiose ausreichend rein.

60 g Melibiosesirup wurden in 400 ccm Wasser gelöst, die Flüssigkeit in eine Glasstöpselflasche gebracht und mit der berechneten Menge Brom (2 Atome) 4 Tage unter häufigem Umschütteln bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach dieser Zeit hatte die Flüssigkeit eine hellgelbe Farbe angenommen, und das Brom war bis auf einen kleinen Rest zur Oxydation verbraucht. Die letzten Spuren wurden durch einen lebhaften Luftstrom verjagt und die entstandene Bromwasserstoffsäure durch Versetzen mit Calciumcarbonat in der Kälte neutralisiert. Jede Erwärmung der sauren Lösung ist zu unterlassen, um eine Hydrolyse der Melibionsäure zu vermeiden. Nach dem Aufhören der Gasentwicklung und Bindung aller Mineralsäure wurde das Gemisch noch einige Zeit auf dem Wasserbade erwärmt, vom Calciumcarbonatschlamm abfiltriert und dieser öfters mit heißem Wasser ausgewaschen. Die Lösung enthielt das Calciumsalz der Melibionsäure und Bromcalcium. Zur Entfernung des letzteren wurde die Flüssigkeit eingeengt und mit Alkohol gefällt, wobei die Hauptmenge des Bromcalciums in

Lösung bleibt. Doch enthält auch der Niederschlag noch reichliche Mengen davon und kann nur durch mehrmaliges Wiederauflösen der Masse in Wasser und Fällen mit Alkohol bromfrei erhalten werden. Ist dieses Stadium erreicht, so krystallisiert das amorph gefällte Salz nunmehr ohne Schwierigkeit, wenn man es in Wasser löst und freiwillig verdunsten läßt.

Folgende Analysen des über Schwefelsäure im Vakuum zur Gewichtskonstanz getrockneten Salzes gaben Aufschluß über die Reinheit und Zusammensetzung der Melibionsäureverbindung.

0,1990 g Substanz lieferten 0,0152 g CaO.

0,1902 g Substanz ergaben 0,2640 g CO_2 und 0,0946 g H_2O.

$(C_{12}H_{21}O_{12})_2$ Ca:

Ber. Ca = 5,30%; C = 38,20%; H = 5,57%;

gef. Ca = 5,45%; C = 37,88%; H = 5,52%.

Drehungsvermögen.

0,5092 g Substanz wurden in 10 ccm Wasser gelöst; $l = 2$, $d = 1{,}01628$, $(\alpha)_{17} = +9^\circ 10'$.

Spez. Drehung = + 88,60°.

Die Eigenschaften der Melibionsäure wurden an dem Kalksalze geprüft. Die Säure besitzt kein Reduktionsvermögen gegen Fehlingsche Lösung; ein solches stellt sich jedoch nach vorherigem Kochen mit Mineralsäuren ein, wobei die Melibionsäure wie ein Disaccharid gespalten wird.

Außer dem Kalksalz sind weitere Verbindungen in krystallisierter Form nicht dargestellt. Die Säure gibt mit Bleiacetat und Bleiessig keine Fällung, wohl aber mit Bleiessig und Ammoniak.

Diese Eigenschaft kann dazu dienen, die Melibionsäure zu isolieren. Wenn man nach Einwirkung des Broms auf die Melibioselösung und nach Austreibung des gelösten freien Broms durch einen Luftstrom mit Bleiessig versetzt, so fällt im wesentlichen Bromblei aus, und Ammoniak schlägt aus dem Filtrat eine Bleiverbindung der Melibionsäure nieder. Dieselbe kann abfiltriert, ausgewaschen und nach dem Anreiben mit Wasser durch Schwefelwasserstoff in der Kälte zersetzt werden. Durch Schütteln mit Calciumcarbonat, Filtration vom Ungelösten, Niederschlagen mit Alkohol und Umfällen gelangt man gleichfalls zum

reinen Calciumsalz. Allein die Ausbeute läßt auf diesem Wege viel zu wünschen übrig, da u. a. die Fällung mit Bleiessig und Ammoniak sicherlich nicht quantitativ erfolgt und dem melibionsaurem Blei basisches Bleibromid beigemischt ist.

h) Elektrolyse der Melibionsäure.

Zur Elektrolyse diente hier wie in den anderen Fällen das Kupfersalz, das in folgender Weise aus dem Kalksalze hergestellt wurde.

7,5 g melibionsaurer Kalk wurden in 50 ccm Wassers unter Erwärmen gelöst und nach dem Erkalten der Flüssigkeit mit der berechneten Menge Oxalsäure (1,3 g in 15 ccm H_2O gelöst) versetzt; der Niederschlag vom Calciumoxalat wurde sofort abfiltriert und mit Wasser nachgewaschen. Das Filtrat enthielt freie Melibionsäure, die durch Versetzen mit Kupfercarbonat und längeres Erwärmen auf dem Wasserbade in das Kupfersalz verwandelt wurde.

Die Lösung des Kupfersalzes, aus der sich bei Reinheit der Melibionsäure kein Kupferoxydul ausschied, wurde auf ungefähr 60 ccm eingeengt und dann der Elektrolyse unterworfen. Nach 5stündiger Einwirkung des Stromes war die Flüssigkeit fast farblos und enthielt nur noch Spuren von Kupfer, die durch Einleiten von Schwefelwasserstoff entfernt wurden. Nach dem Abfiltrieren des Cuprisulfids wurde die Flüssigkeit auf 30 ccm bei 50° eingeengt. Melibionsäure, die vor der Elektrolyse Fehling nicht reduzierte, ergab jetzt nach der Elektrolyse eine beträchtliche Abscheidung von Kupferoxydul.

Alle Versuche, durch direktes Eindampfen, Ausziehen mit Alkohol, Bleifällungen usw. zum krystallisierten C_{11}-Zucker zu gelangen, schlugen fehl; auch mit Phenylhydrazin und seinen Substitutionsprodukten, dem Methyl- und Diphenylhydrazin, war es nicht möglich, ein krystallisiertes Hydrazon zu fassen. Das Phenylosazon entsteht zwar beim Erwärmen der Zuckerlösung mit essigsaurem Phenylhydrazin, es bildet jedoch zur Verharzung stark neigende, gelbbraune Flocken. Das einzige krystallisierte Produkt, dessen Darstellung mit vieler Mühe gelang, war das p-Nitrophenylosazon.

Zu diesem Zwecke wurde die elektrolysierte Flüssigkeit mit einer alkoholischen Lösung von p-Nitrophenylhydrazin und einigen

Kubikzentimetern Essigsäure versetzt und 1 Stunde auf dem Wasserbade erwärmt. Dabei begann nach einiger Zeit die Abscheidung von braunroten Flocken, die in Wasser, Alkohol, Äther und den üblichen Lösungsmitteln schwer löslich sind, leicht von Pyridin aufgenommen und durch Petroläther wieder abgeschieden werden. Durch dreimaliges Lösen in Pyridin und Ausfällen mit Petroläther erhält man ein reines Osazon, das bei 220° schmilzt und sich wie die meisten p-Nitrophenylosazone mit alkoholischer Kalilauge dunkelblau färbt. Die Ausbeute an p-Nitrophenylosazon betrug 0,347 g.

Analyse:

0,0862 g Subst. ergaben 10,8 ccm N (19°, 756 mm),
0,0888 g Subst. „ 0,1560 g CO_2 und 0,0439 H_2O.

$C_{11}H_{18}O_8(N.NHC_6H_4NO_2)_2$:

Ber. C = 47,59 %; H = 4,95 %; N = 14,48 %;
gef. C = 47,91 %; H = 5,35 %; N = 14,28 %.

Die schlechte Ausbeute an C_{11}-Zucker beruht darauf, daß ein großer Teil der Säure bei der Elektrolyse unverändert bleibt. Eine wesentliche Spaltung in d-Galactose und d-Arabinose findet nicht statt, denn diese zwei Kohlenhydrate hätten sich bei der Verarbeitung der Zuckerlösung auf Methylphenyl- und -diphenylhydrazon unzweifelhaft zu erkennen gegeben. Hinzugefügt sei noch, daß die Lösung des C_{11}-Zuckers beim Erwärmen mit Salzsäure und Orcin sowie mit Salzsäure und Phloroglucin die Tollensschen Pentosenreaktionen gibt, wie es für ein Disaccharid der Arabinose zu erwarten ist.

Über Oxydationsprodukte des Erythrits
(d, l-Erythronsäure und d, l-Oxyerythronsäure).

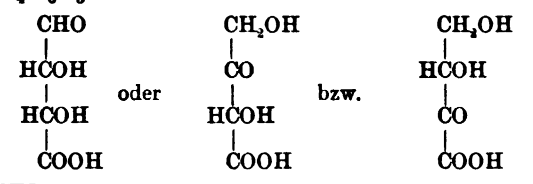
Von

C. Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der kgl. Landwirtschaftl. Hochschule, Berlin.)

Die Carbonylsäuren, von denen bisher nur wenige Vertreter bekannt sind, haben in letzter Zeit eine gewisse Bedeutung dadurch erlangt, daß sie bei einer Reihe sehr einfacher chemischer Eingriffe aus einer großen Anzahl weitverbreiteter Naturstoffe (z. B. aus Zuckern, Alkoholen, Aminosäuren) hervorgehen können und allem Anscheine nach auch im tierischen Stoffwechsel eine Rolle spielen.[1]) Die meisten Säuren dieser Klasse sind jedoch nicht in reinem Zustande erhalten; es hängt das mit der Schwierigkeit der Abscheidung und ihrer oft geringen Neigung zur Krystallisation zusammen.

Zu anderem Zwecke vorgenommene Versuche ergaben, daß eine solche Carbonylsäure auch unter den Oxydationsprodukten des natürlichen Erythrits nachzuweisen ist. Bei Behandlung des Meso-Erythrits mit Salpetersäure tritt neben d, l-Erythronsäure eine Aldehyd- oder Ketosäure[2]) von der Zusammensetzung $C_4H_6O_5$ auf:



[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 18, 305, 1908; 17, 270, 1909; 20, 526, 1909; 20, 531, 1909. — O. Neubauer, Arch. f. klin. Med. 95, 211, 1909.

[2]) Vielleicht entsteht auch ein Gemisch von Aldehyd- und Ketoverbindung, analog dem Übergang von Glycerin in Glycerinaldehyd und Dioxyaceton oder von Mannit in Fructose und Mannose.

Ihre Bildung bei dieser Reaktion entspricht der gleichzeitigen Entstehung von Glyoxalsäure[1]) und Essigsäure bei der Oxydation von Äthylalkohol mit HNO_3.

Es hat sich weiter gezeigt, daß nach Abscheidung dieser Carbonylsäure die ebenfalls gebildete d, l-Erythronsäure als krystallisierendes Calciumsalz isoliert werden kann.

Die inaktive Erythronsäure ist zuerst von O. Ruff und A. Meußer[2]) in reinem Zustande erhalten, und zwar durch Vereinigung von krystallisiertem d- und l-Erythronsäurelacton; später ist sie durch Aufbau aus der β, γ-Dichlorbuttersäure von R. Lespieau[3]) dargestellt worden. Die früheren Versuche anderer Autoren, sie durch Oxydation des natürlichen Meso-Erythrits darzustellen, hatten dagegen nicht zum Resultat geführt (Sell, Lamparter), vielmehr war, wie schon Ruff und Meußer betonen, die auf diesem Wege gewonnene Erythronsäure zum mindesten nicht rein und wahrscheinlich von einer Ketosäure begleitet.

Zuletzt haben sich R. S. Morell und J. M. Crofts[4]) mit der Darstellung von Erythronsäure aus Meso-Erythrit beschäftigt. Die von diesen Autoren angegebene Vorschrift ist wohl die beste, jedoch hat sich jetzt ergeben, daß auch bei dieser Arbeitsweise eine Keto- oder Aldehydsäure als Nebenprodukt entsteht. Diese verunreinigt die d, l-Erythronsäure und verhindert ihre bzw. ihrer Salze Krystallisation.

Experimentelles.

(Mitbearbeitet von L. Scott, Belleville. U. St. A.)

Die Trennung und Isolierung der d, l-Erythronsäure und ihres Begleiters, der die Aldehyd- oder Ketosäure von vorläufig unbekannter Konstitution ist und daher zunächst als Oxyerythronsäure bezeichnet werden möge, gelang folgendermaßen:

50 g m-Erythrit werden mit 125 ccm Salpetersäure vom spez. Gew. 1,2 ca. 30 Stunden lang auf 45 bis 50° erwärmt, dann mit Wasser verdünnt und im Vakuum eingeengt. Den Rück-

---

[1]) Debus, Annal. d. Chem. 100, 1.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 34, 1362, 1901.

[3]) Bull. soc. chim. de France [IV]. 1, 1112, 1908.

[4]) Journ. of Chem. Soc. 81, 674, 1902.

stand löst man wieder in Wasser und konzentriert ihn zur möglichst völligen Entfernung der Salpetersäure nochmals im Vakuum. Der hinterbleibende Sirup wird in 500 ccm heißem Wasser gelöst und mit überschüssigem Calciumcarbonat bis zum Aufhören der Gasentwicklung gekocht. Das Filtrat von den gut ausgewaschenen Kalksalzen der Kohlen-, Oxal- und Weinsäure wird bei 40° auf etwa 100 ccm eingeengt und dann in ca. 1 l gewöhnlichen Alkohol eingetropft. In der gelblichweißen Flüssigkeit entsteht ein fast farbloser Niederschlag, der nach dem Absaugen von der Mutterlauge (I) hygroskopisch ist und Fehlingsche Mischung deutlich reduziert. Klebrigkeit und Reduktionsvermögen bleiben auch nach mehrfacher Umfällung aus wässeriger Lösung bestehen. Man löst nunmehr die Fällung in wenig warmem Wasser und versetzt mit gesättigter Barytlösung, solange ein Niederschlag entsteht, und erwärmt einige Augenblicke auf dem Wasserbade. Die von der citronengelben Fällung (II) abfiltrierte Flüssigkeit reduziert nur noch schwach Fehlingsche Lösung; sie wird nun genau mit Schwefelsäure vom Baryt befreit und mit überschüssigem Kupfercarbonat $^1/_4$ Stunde gekocht. Dabei wird durch Oxydation der Rest der reduzierenden Beimengung zerstört. Man filtriert dann, wäscht mit heißem Wasser aus und fällt das gelöste Kupfer mittels Schwefelwasserstoff. Das Filtrat vom Cuprisulfid wird auf dem Wasserbade vom gelösten Schwefelwasserstoff befreit und mit gefälltem kohlensaurem Kalk etwa 20 Minuten gekocht. Engt man nun die filtrierte Lösung bei 40° auf ca. 30 bis 40 ccm ein, so scheiden sich nach einigen Tagen harte Krusten eines farblosen Calciumsalzes aus. Als nach mehreren Tagen seine Menge nicht mehr zunahm, wurde es abgesaugt und aus etwas heißem Wasser umkrystallisiert, aus dem es in feinen Nadeln ausfiel.

Die Substanz ist reines d,l-erythronsaures Calcium, das auf diesem Wege zum ersten Male krystallisiert erhalten worden ist. Das krystallisierte Salz hat nach dem Trocknen im Vakuum bei 60° die Zusammensetzung

$$(CH_2OH-CH.OH-CH.OH-COO)_2Ca.$$

0,2442 g Subst.: 0,2738 g CO_2; 0,0969 g H_2O.

0,1880 g Subst.: 0,0344 g CaO (= 0,0246 Ca).

$(C_4H_7O_5)_2Ca$: Ber. C = 30,97; H = 4,52; Ca = 12,90 %;

gef. C = 30,58; H = 4,41; Ca = 13,08 %.

Die begleitende Oxyerythronsäure ist in dem erwähnten citronengelben Barytniederschlage (II) enthalten, aber auch in der alkoholisch-wässerigen Mutterlauge (I) des unreinen erythronsauren Calciums.

Um sie hieraus zu isolieren, wurde die Flüssigkeit im Vakuum zum Sirup eingedampft, dieser in Wasser gelöst, von einigen dunklen, festen Ausscheidungen abfiltriert und gleichfalls mit konzentriertem lauwarmem Barytwasser ausgefällt. Auch dieser Niederschlag färbt sich beim Erwärmen citronengelb, er muß gründlich mit kaltem Wasser ausgewaschen werden.

Die aus beiden Fraktionen erhaltenen Barytfällungen werden dann sofort,[1]) ohne daß sie vorher getrocknet werden dürfen, in einer Reibschale mit verdünnter Schwefelsäure zerlegt, ohne Filtration in einen Kolben übergeführt, darin mit gefälltem Bariumcarbonat geschüttelt und dann kurze Zeit auf dem Wasserbade gelinde erwärmt. Dann wird filtriert, bei 40° eingeengt und in Alkohol eingetropft. Der entstandene Niederschlag wird zur weiteren Reinigung mehrfach, mindestens 5 mal, aus wässeriger Lösung durch Alkohol gefällt: man erhält dann ein farbloses amorphes Pulver, das leicht löslich in Wasser, aber nicht hygroskopisch ist. Die Ausbeute betrug 1,3 g. Die Analyse der im Vakuum bei 35° über Phosphorpentoxyd getrockneten Verbindung zeigte, daß das normale Bariumsalz einer Oxyerythronsäure, $C_4H_6O_5$, vorliegt.

0,1411 g Subst.: 0,1241 g CO_2; 0,0330 g H_2O.

0,1683 g Subst.: 0,0978 g $BaSO_4$ (= 0,0575 g Ba).

$(C_4H_5O_5)_2Ba$: Ber. C = 23,82; H = 2,48; Ba = 34,00 %;
gef. C = 24,01; H = 2,59; Ba = 34,22 %.

Durch überschüssiges Barytwasser entsteht wieder das unlösliche basische Bariumsalz, das sich beim Erwärmen citronengelb färbt und zusammenballt. Es hat allem Anscheine nach die Zusammensetzung $C_4H_5O_5 . BaOH$. Eine schnell abfiltrierte und ausgewaschene Probe hat nach dem Trocknen in vacuo einen Gehalt von 48,30 % Ba, während obige Formel 47,74 % verlangt. Durch Kohlensäure wird es nur langsam und unvollständig zerlegt.

---

[1]) Beim Trocknen verändert sich der Barytniederschlag weitgehend, ebenso bei längerem Aufbewahren in feuchtem Zustande.

Die wässerige Lösung des normalen Bariumsalzes wird nicht durch Bleiacetat, wohl aber durch Bleiessig gefällt; auch mit Chlorcalcium und Ammoniak entsteht ein Niederschlag.

Weder die aus dem Bariumsalz durch genaue Ausfällung mit Schwefelsäure noch die aus der Bleiverbindung durch Schwefelwasserstoff dargestellte freie Säure ist bisher krystallisiert erhalten worden; sie wie ihre Salze reduzieren die Fehlingsche Mischung intensiv bei gelindem Erwärmen.

Ob die Oxyerythronsäure die Aldehyd- oder eine der beiden Ketoverbindungen (siehe S. 166) darstellt, ist bisher unentschieden; ihr Verhalten erinnert in vielen Punkten an das der d-Glucuronsäure, doch gibt sie nicht die Tollensschen Farbenreaktionen mit Orcin, Phloroglucin und Salzsäure und entwickelt als Derivat der 4-Kohlenstoffreihe[1]) auch beim trocknen Erhitzen kein Furfurol. Wohl aber reagiert sie mit Naphthoresorcin und Salzsäure unter Bildung eines in Äther mit blauvioletter Nuance löslichen Farbstoffes analog vielen anderen Carbonylsäuren.[2]) Als Abkömmling des Meso-Erythrits zeigt diese Oxyerythronsäure natürlich kein optisches Drehungsvermögen.

---

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 9, 551, 1908.

[2]) J. A. Mandel und C. Neuberg, diese Zeitschr. 13, 148, 1908.

Zur Kenntnis der Stachyose.

Von

C. Neuberg und S. Lachmann.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

Von den natürlich vorkommenden Polysacchariden besitzt ein besonderes Interesse der seltene Zucker Stachyose, da er das einzige bis jetzt im krystallisierten Zustande bekannte Tetrasaccharid bildet. Es liegen bisher über dieses Kohlenhydrat Untersuchungen von Tanret[1]), Planta[2]) sowie Schulze und Planta[3]) und Winterstein[4]) vor, durch welche die Formel $C_{24}H_{42}O_{21}$ sichergestellt ist.

Als hydrolytische Spaltungsprodukte der Stachyose sind Fruchtzucker, Traubenzucker sowie Galaktose aufgefunden worden, und zwar sind aller Wahrscheinlichkeit nach die genannten Kohlenhydrate im Verhältnis von 1 Mol. Fructose, 1 Mol. Glucose und 2 Mol. Galaktose zum Tetrasaccharid zusammengefügt. Letzteres besitzt kein Reduktionsvermögen gegen Fehlingsche Lösung, so daß man für die vier Monosaccharide eine Verknüpfung nach dem Typus, wie er im Rohrzucker und der Raffinose vorliegt, annehmen muß. In welcher Reihenfolge diese Zucker aneinander gelagert sind und wie die feinere Art der Bindung ist, weiß man bis heute nicht. Durch Fermentspaltung der Stachyose durfte man hoffen, hierüber Aufklärung zu erhalten.

---

[1]) Compt. rend. 134, 1586; 136, 1569.

[2]) Landw. Versuchsstat. 25, 473.

[3]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 1692, 1890; 24, 2705, 1891.

[4]) Landw. Versuchstat. 41, 375.

Vor einiger Zeit ist es Neuberg[1]) gelungen, die Raffinose durch Emulsin in d-Galaktose und Rohrzucker zu zerlegen, wonach dieses Trisaccharid als β-Galaktosid des Rohrzuckers aufzufassen ist.[2]) Würde nun Emulsin in analoger Weise auf die Stachyose einwirken, so hätte es gelingen müssen, durch Abspaltung von 1 bzw. 2 Mol. Galaktose die Stachyose in Raffinose bzw. Rohrzucker zu verwandeln und damit ihre Konfiguration aufzuklären. Allein diese Erwartung hat sich nicht erfüllt.

Zwar wirkt Emulsin zerlegend auf die Stachyose ein, aber offenbar in anderer Weise, da es bisher nicht möglich war, d-Galaktose unter den Spaltungsprodukten nachzuweisen.

Die Veränderung von Stachyose durch Emulsin geht überhaupt nur langsam vor sich. Von einer so glatten Spaltung durch das Ferment wie bei der Raffinose kann keine Rede sein. Deutliches Reduktionsvermögen stellt sich erst nach mehreren Tagen ein; aber selbst bei 3 Monate lang fortgesetzter Einwirkung ist noch viel Stachyose unzerlegt. Dampft man das Reaktionsprodukt nach dieser Zeit zum Sirup ein und extrahiert diesen mit Alkohol, so nimmt dieser die gebildete reduzierende Substanz auf. Dieselbe ist, wie bereits erwähnt, nicht d-Galaktose. (Ob sie vielleicht eine Digalaktose ist, entstanden aus Stachyose etwa im Sinne des Schemas:

Fructose-Glucose- ⋮ Galaktose-Galaktose →
Rohrzucker + Digalaktose (hypothetisch)

war nicht zu entscheiden; eine Verarbeitung des in Alkohol unlöslichen Rückstandes, der neben viel unveränderter Stachyose ev. Raffinose oder Rohrzucker enthalten konnte, war vorläufig erfolglos.)

Es wurde deshalb die Wirkung anderer Enzyme auf Stachyose studiert, nämlich der Hefenmaltase, wie sie in der getrockneten Bierhefe vorliegt, und der Kefirlactase.

---

[1]) Diese Zeitschr. 3, 519, 1907.

[2]) Auf die Spaltbarkeit der Raffinose durch Emulsin kann der Nachweis dieses Trisaccharids (C. Neuberg u. F. Marx, diese Zeitschr. 3, 535, 1907; Zeitschr. des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie 57, 453) gegründet worden. Ch. Lefèbvre (Arch. d. Pharm. 245, 485) hat sich später des gleichen Prinzips bedient, ohne die früheren Mitteilungen von Neuberg und Marx zu erwähnen.

Beide Enzyme wirken prompt auf das Tetrasaccharid. Bereits am nächsten Tage kann man ein starkes Reduktionsvermögen gegen Fehlingsche Lösung konstatieren.

Allein die Reaktion verläuft im selben Sinne wie bei schwach hydrolysierenden, rein chemischen Agentien, z. B. bei Essigsäure, indem sie unter Abspaltung des Fruchtzuckerrestes die von Tanret[1]) erhaltene Manninotriose erzeugt, etwa:

Fructose- ⁝ Glucose-Galaktose-Galaktose ⟶
Fructose + Manninotriose.

Darstellung von Stachyose.

Stachyose wurde aus den Knollen von Stachys tubifera nach dem Verfahren von Planta und Schulze hergestellt. Dasselbe besteht darin, daß der ausgepreßte Wurzelsaft mit Bleiessig und Quecksilbernitrat gefällt und nach Entfernung der gelösten Metalle durch Schwefelwasserstoff mit Ammoniak neutralisiert, auf dem Wasserbade eingeengt und mit Alkohol gefällt wird. Die wässerige Lösung dieses Niederschlages wird alsdann mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, das Filtrat des dadurch entstandenen Niederschlages abermals eingeengt und mit absolutem Alkohol gefällt. Durch Wiederauflösen in Wasser und erneute Fällung mit Alkohol, wird das Produkt gereinigt und kann schließlich durch Abscheidung aus 90%igem Alkohol krystallisiert erhalten werden.

Da die Ausbeuten nach diesem Verfahren zu wünschen übrig lassen, haben wir folgende zweckmäßige Änderung angebracht.

Das zur Reinigung benutzte Quecksilbernitrat wurde durch Mercuriacetat ersetzt, das aus dem Wurzelsaft noch mehr verunreinigende Bestandteile als das Nitrat zu fällen vermag; außerdem entsteht bei der nachfolgenden Behandlung mit Schwefelwasserstoff nur Essigsäure, die offenbar weniger invertierend als Salpetersäure auf Stachyose wirkt. Als weiteres brauchbares Hilfsmittel erwies sich die Reinigung über die Barytverbindung, die nach der Phosphorwolframsäurebehandlung vorgenommen wurde. Zu diesem Zweck wurde der kleine Über-

---

[1]) Bull. de la Soc. chim. [III.] 27, 947.

schuß von Phosphorwolframsäure durch Barytwasser entfernt und das Filtrat bei alkalischer Reaktion auf dem Wasserbade zum dünnen Sirup eingeengt. Zu diesem wurde dann abwechselnd Barytwasser und Alkohol hinzugefügt, solange noch eine Fällung entstand. Nach 24stündigem Stehen wurde abgenutscht, mit barythaltigem Alkohol gründlich nachgewaschen, der Niederschlag in einer Reibschale mit Wasser angerieben und durch einen lebhaften Kohlensäurestrom unter gelindem Erwärmen zersetzt. Durch die Überführung in das Barytsalz gelingt es, allen reduzierenden Zucker, der nach der Behandlung mit Phosphorwolframsäure in der Flüssigkeit mittels Fehlingscher Mischung nachzuweisen ist, zu entfernen. Nach einmaliger Ausfällung der Stachyose mit Alkohol in sirupösem Zustande, erhält man das Tetrasaccharid in krystallisierter Form, wenn man die Fällung in wenig Wasser löst, mit Alkohol bis zur Trübung versetzt und mit einigen Impfsplittern[1]) anrührt.

Die Stachyose scheidet sich dann im Verlaufe von etwa einer Woche als klein krystallisierter Schlamm ab und kann nach dem Absaugen nunmehr durch Krystallisation aus heißem Wasser in reiner Form erhalten werden.

Sie zeigt alle Eigenschaften, die von Schulze, Planta und Winterstein angegeben worden sind. Das Drehungsvermögen der lufttrockenen Substanz, die das Hydrat $C_{24}H_{42}O_{21} + 4\,H_2O$ ist, ergab sich zu $[\alpha]_{D_{18}} = +133{,}9^\circ$.

($\alpha = +10{,}00^\circ$; $d = 1{,}0112$; 0,3696 g Substanz in 10 ccm H_2O, $l = 2$.)

Es war eine belanglose Spur höher, als Schulze und Planta für Stachyose angegeben haben. ($[\alpha]_{D_{18}} = +133{,}5^\circ$).

Spaltung der Stachyose durch Emulsin.

3,0 g Stachyose wurden in 60 ccm Wasser gelöst und mit 1 g eines Emulsinpräparates versetzt, das nach den Angaben von Neuberg[2]) gereinigt war, d. h. weder reduzierende Substanz enthielt, noch bei der Digestion abspaltete und Amygdalin

[1]) Wir verdanken dieselben der Freundlichkeit von Herrn Prof. Schulze und Herrn Prof. Winterstein.

[2]) Diese Zeitschr. 3, 535, 1907.

in wenigen Minuten zerlegte. Erst nach einigen Tagen erlangte das mit Toluol konservierte Stachyose-Emulsingemisch Reduktionsvermögen. Die Flüssigkeit blieb 3 Monate im Brutschranke bei 37° stehen, wurde dann mit Wasser verdünnt, aufgekocht, von den ausgeschiedenen Flocken abfiltriert und bei 40° eingeengt. Nach Zusatz der für 2 Moleküle Galactose berechneten Menge Methylphenylhydrazin und von so viel Alkohol, daß eine klare Lösung entstand, blieb die Mischung 24 Stunden sich selbst überlassen und wurde dann durch Eindampfen vom Alkohol befreit. Es schieden sich hierbei nur einige vom Emulsin herrührende Flocken ab (Biuretreaktion), aber weder freiwillig noch nach Impfung krystallisierte das so charakteristische d-Galactosemethylphenylhydrazon aus. Auch bei mehreren anderen Versuchen mit Emulsin, die bezüglich der Dauer der Fermenteinwirkung variiert wurden, konnte zwar der Eintritt einer enzymatischen Spaltung durch das Reduktionsvermögen erkannt werden, aber der Nachweis von freier Galactose gelang nicht, auch dann nicht, als das zum Sirup eingeengte Produkt der Fermenteinwirkung zuvor mit Alkohol extrahiert wurde, der den reduzierenden Zucker aufnahm.

Spaltung der Stachyose durch Hefenmaltase.

3,0 g Stachyose wurden mit 3 g eines nach den Angaben von E. Fischer bereiteten Präparates von Hefenmaltase und 60 ccm Wasser angesetzt und unter Zusatz von 1 ccm Toluol und einem Tropfen Chloroform in den Brutschrank gestellt. Nach 3 Tagen zeigte die Lösung eine Rechtsdrehung, die im 2 dcm-Rohr dem Gehalt einer 6,6°/₀ igen Traubenzuckerlösung entsprach. Nach 5 Tagen war dieser Wert unverändert, so daß die Verarbeitung der Flüssigkeit in Angriff genommen werden konnte.

Zu diesem Zweck wurde die Bierhefe abfiltriert, das Filtrat auf dem Wasserbade erwärmt, die ausgeschiedenen Flocken entfernt und die klare Lösung zu einem dicken Sirup eingeengt. Dieser Sirup wurde mit absolutem Alkohol in der Wärme ausgezogen, wobei ein Teil der Masse in den Alkohol überging. Der in Alkohol unlösliche Teil wurde in der später angegebenen Weise behandelt. Die Extraktion mit Alkohol wurde so lange fortgesetzt, bis keine Substanz mehr von diesem Lösungsmittel

aufgenommen wurde. Die alkoholischen Auszüge wurden vereinigt, der Alkohol verdampft und der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen. Die Lösung gab mit Resorcin und Salzsäure in gelinder Wärme die für Fructose charakteristische intensive Rotfärbung und drehte die Ebene des polarisierten Lichtes nach links. Zur weiteren Charakterisierung wurde das Methylphenylosazon dargestellt. Zu diesem Zweck wurde die ziemlich konzentrierte wässerige Lösung mit der berechneten[1]) Menge Methylphenylhydrazin und einigen Kubikzentimetern Essigsäure versetzt und ungefähr 10 Minuten auf dem Wasserbade erwärmt. Beim Stehen schieden sich nach einigen Minuten die rotgelben Nadeln des Methylphenylosazons ab, die nach 12 Stunden abfiltriert und aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert wurden. Das so erhaltene Produkt wurde abgesaugt und auf der Nutsche wiederholt mit Äther gewaschen, wodurch das Osazon eine hellgelbe Farbe erhielt. Die Ausbeute betrug 0,800 g. Die Verbindung schmolz bei 153° und gab folgende Analysenzahlen:

0,1002 Subst.: 12,6 ccm N (22°, 765 mm).
$C_{20}H_{26}N_4O_4$: Ber. 14,51 %;
gef. 14,33 %.

Es handelt sich also um Fruchtzucker.

Der in Alkohol unlösliche Rückstand reduzierte gleichfalls stark die Fehlingsche Mischung. Er wurde in Wasser gelöst, durch Kochen mit Tierkohle entfärbt und auf ein kleines Volumen eingeengt. Zur Abscheidung dieses von Fructose befreiten Zuckers wurde die Flüssigkeit mit der berechneten Menge Phenylhydrazin und einigen Kubikzentimetern Essigsäure versetzt und das Gemisch in einem Becherglase 1 Stunde im Wasserbade erwärmt. Erst nach dem Erkalten schieden sich gelbe Flocken aus, die mehrmals unter Zusatz von etwas Tierkohle aus sehr verdünntem Alkohol umkrystallisiert wurden. Die Ausbeute an Osazon betrug 0,370 g; es schmolz zwischen 193 bis 194°.

0,1422 Subst.: 11,0 ccm N (20°, 750 mm).
$C_{30}H_{42}O_{14}N_4$: Ber. 8,21 % N;
gef. 8,65 % N.

---

[1]) Der Berechnung lag die Annahme zu Grunde, daß $^1/_4$ der angew. Stachyose — entsprechend der Theorie — zu Fructose geworden sei.

Hiernach handelt es sich um das Osazon eines Trisaccharids. Es lag nahe, an die Manninotriose zu denken, die, wie Tanret gefunden hat, auch durch gemäßigte Säurehydrolyse aus der Stachyose hervorgeht. Allerdings zeigte das durch die Hefenmaltasewirkung gewonnene Osazon einen anderen Schmelzpunkt (193 bis 194°), während Tanret[1]) für das Mannatrisaccharidosazon den Schmelzpunkt 122° angibt.

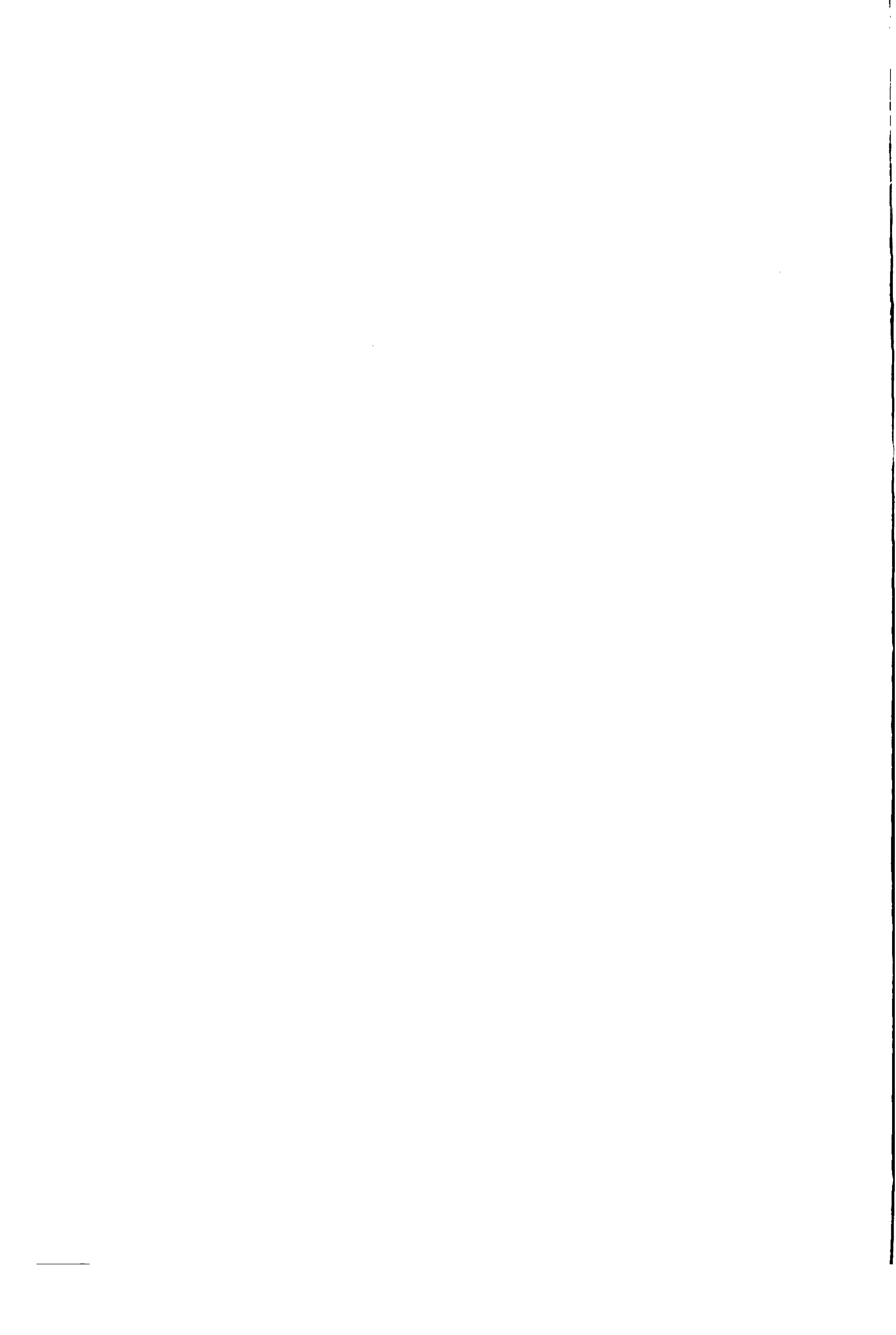
Zur Aufklärung dieser Differenz wurde das Osazon der Manninotriose nach Tanrets Angaben aus mit Essigsäure invertierter Stachyose dargestellt. Nachdem die Fructose möglichst abgetrennt war, wurde auch hier ein in heißem Wasser lösliches Osazon erhalten, das zwischen 194 bis 195° schmolz, so daß die Identität der auf verschiedenen Wegen aus Stachyose erhaltenen Trisaccharidosazone sehr wahrscheinlich ist. Vermutlich liegt bei der Angabe Tanrets ein Druckfehler vor.

Spaltung der Stachyose durch Kefirlactase.

Die Kefirlactase wurde nach der Vorschrift E. Fischers hergestellt. Zur Spaltung wurden 2,5 g Stachyose in 50 ccm filtriertem Kefirauszug (6,0 g Kefir auf 200 ccm Wasser) gelöst. Die Spaltung erfolgte in jeder Hinsicht analog der durch Hefenmaltase. Auch hier wurde das erhaltene Trisaccharid in Form seines Phenylosazons nachgewiesen. (Es mag auffallen, daß Kefirlactase und Hefenmaltase auf Stachyose gleichartig wirken, während sie sonst bis zu einem gewissen Grade hinsichtlich ihres Spaltungsvermögens auf Glucoside verschiedenartig sind. Dieses ungleiche Spaltungsvermögen zeigt sich bei den Alkylglucosiden und Disacchariden vom Typus der Maltose oder des Milchzuckers.

Wenn sie beide auf die komplizierte Stachyose, die wohl eine Bindungsform vom Charakter des Rohrzuckers enthält, wirken, so ist zu bedenken, daß die Kefirkörner außer der eigentlichen Lactase allem Anscheine nach auch eine Invertase enthalten.)

[1]) Compt. rend. 134, 1586.



Über den Lecithingehalt des Knochenmarks von Mensch und Haustieren.

Von

A. Bolle.

(Aus der biochemischen Abteilung des Instituts für experimentelle Therapie zu Düsseldorf.)

(Eingegangen am 30. Dezember 1909.)

An einem großen mir zur Verfügung stehenden Material an Knochen des Menschen und der verschiedenen Haustiere, vom Foetus bis ins Alter, unternahm ich auf Veranlassung von Herrn Dr. Nerking Untersuchungen darüber, wie hoch der Lecithingehalt des Knochenmarks bei gesunden Tieren wäre, ob derselbe im Alter zu- oder abnähme, und drittens, ob bei pathologischen Veränderungen das Lecithin sich verringerte oder ganz schwände. Ehe ich die von mir angewandte Methode erläutere, sei es mir gestattet, kurz die üblichen Methoden zu beschreiben.

1. Fraktionierung durch verschiedene Lösungsmittel (Altmann, Zülzer). Man zieht die zu untersuchenden Stoffe resp. Organe mit Alkohol und Äther aus. Das Extrakt wird durch Aceton getrennt in Cholesterin und Fett, andrerseits in Phosphatide. Nach Zülzer ist die Trennung keine exakte, die Acetonlösung enthält auch Phosphatide und der Acetonrest Fett, Tripalmitin. Ferner enthält das Lipoidextrakt andere Körper, die entweder acetonlöslich oder unlöslich sind. Ferner wies Nerking nach, daß die Fällung des Lecithins mit Aceton nie eine vollständige ist, es bleiben bis 50% des Lecithins in dem Aceton gelöst.

2. Um aus dem ursprünglichen Äther- und Alkoholextrakt die Lipoide zu trennen, wandte Strecker Metallsalze an, und zwar $PtCl_4$ und $CdCl_2$. Thudichum nahm zu diesem Zweck Bleisalze. Um die $CdCl_2$-Phosphatverbindungen zu zerlegen, nahm Strecker H_2S und entfernte die Salzsäure mit Ag_2O. Thudichum nahm die Millonsche Base $(NH_2)_2O\,2Hg_2O$, um nach Verdampfen der alkoholischen Lösung das regenerierte Phosphatid zu erhalten. Bei dieser Methode tritt eine teilweise Zersetzung des Phosphatids durch Schwefelwasserstoff auf, weshalb sie nicht zu empfehlen ist.

3. Bergell benutzte zur Trennung des $CdCl_2$-Phosphatids Ammoniumcarbonat, dann wurde bis —10° C abgekühlt, wodurch sich das

regenerierte Lecithin ausschied. Bei diesem Verfahren entstehen nach Erlandsen große Verluste durch das lange Kochen mit Alkohol und Ammoniumcarbonat, weshalb es sich auch nicht eignet. Auch behauptet Erlandsen, daß bei dieser Methode das aus der Metallverbindung regenerierte Lecithin schon ein Zersetzungsprodukt sei und weist dieses durch die Elementaranalyse nach.

4. Das Verfahren, das Lecithin aus der alkoholischen Lösung durch Kältewirkung auszuscheiden, habe ich schon bei Beschreibung der Darstellungsmethoden berührt. Diese Methode, von Hoppe-Seyler und Diakonow versucht, erzielte auch nur eine unvollkommene Ausscheidung.

5. Peritz wandte folgendes Verfahren an, um im Serum den Lecithingehalt zu bestimmen. Er trocknete das Serum mit Seesand bei 36°, extrahierte 24 Stunden mit Chloroform und 24 Stunden mit Alkohol. Die so erhaltenen Extrakte werden verdampft, die Rückstände mit Äther aufgenommen, filtriert, der Äther verdunstet. Der Rückstand ist dann das Rohfett. Es wird nach der Neumannschen Methode mit Salpeterschwefelsäuregemisch aufgeschlossen und dann nach Neumann bestimmt. Bei dieser Methode bekommt man leicht Verluste durch Verspritzen bei der Salpeterschwefelsäureveraschung.

6. Die Methode von Hoppe-Seyler, Parke und Diakonow, die darin besteht, die Organe sukzessive mit Alkohol und dann mit Äther oder Chloroform zu extrahieren und dann den Phosphor in den verdunsteten und mit Äther wieder aufgenommenen Extrakten zu bestimmen. Diese Methode ist in neuerer Zeit von Nerking bei seinen Knochenmarkanalysen angewandt und von Vageler bei seinen Analysen über den Lecithingehalt der tierischen und pflanzlichen Stoffe benutzt.

Zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung des Lecithins schlug ich folgendes Verfahren bei meinen Knochenmarksanalysen ein:

I. Methode: Das Knochenmark wird gewonnen aus den großen Röhrenknochen, Tibia oder Femur, indem der Knochen mit einem Holzhammer vorsichtig zertrümmert wird. Dann wird das Mark mit einem Platinspatel möglichst aus der Mitte genommen, um Knochenbälkchen zu vermeiden. Das Mark wird in einem Mörser gut verrieben. Nachdem die Gewichtsmenge bestimmt, wird das Knochenmark mit der 10fachen Menge 96%igen Alkohols 10 bis 12 Stunden bei höchstens 60° C digeriert. Der Alkohol wird filtriert, und nachdem derselbe verdunstet, wird der Rückstand mit Chloroform aufgenommen.

Der Filterrückstand wird in Chloroform 6 Stunden bei 60° C digeriert, filtriert und mit dem Chloroformauszug zusammen 6 bis 10 Stunden im Soxhlet-Apparate heiß extrahiert. Alsdann wurde der Inhalt des Apparates in ein vorher tariertes Glas filtriert und verdunstet, wodurch ich das Rohfett erhielt. Letzteres wurde vorsichtig mit Salpeter-Sodamischung verascht, bis sämtliche Kohlepartikelchen verbrannt waren, dann in Wasser + Salpetersäure, letztere im Überschuß, gelöst und mit 15%iger molybdänsaurer Ammoniumlösung in der Wärme gefällt. Es bildet sich ein gelber Niederschlag (Ammoniummolybdophosphat). Letzterer wird filtriert, mit Ammoniumnitratlösung ausgewaschen, in Ammoniak gelöst und filtriert. Aus der Lösung wird mit Magnesiamixtur

die phosphorsaure Ammoniak - Magnesia gefällt. Letztere bildet einen weißen Niederschlag, der nach dem Filtrieren und Auswaschen getrocknet, dann im Platintigel geglüht und als $Mg_2P_2O_7$ gewogen wird.

Hierauf kann man den Phosphor nach folgender Formel berechnen:

$$\begin{array}{r} Mg_2 = 48 \\ P_2 = 62 \\ O_7 = 112 \\ \hline Mg_2P_2O_7 = 222 \end{array}$$

$$\text{oder } 111 : 31 = \text{gefundene Substanz} : x$$

$$x = \frac{31 \times \text{gefundene Substanz}}{111}$$

Um mit den Angaben anderer Forscher zu vergleichende Zahlen zu erhalten, habe ich auch durch Multiplikation der gefundenen $Mg_2P_2O_7$ wie üblich mit dem Faktor 7,27 die Umrechnung auf Lecithin vorgenommen.

II. Methode: Um festzustellen, welche Methode eine größere Ausbeute an Fett oder Lecithin ergäbe, wurden 12 Parallelanalysen ausgeführt, und zwar a) nach der oben beschriebenen Methode I; b) nach folgender Methode: Die Substanz wird mit der 10fachen Menge absolutem Alkohol bei etwa 60° C 6 Stunden ausgezogen und dann filtriert = Filtrat I. Der Rückstand wird fein gepulvert und 3 Stunden mit 96%igem Alkohol im Soxhlet-Apparate extrahiert. Der Auszug wird dem Filtrat I hinzugefügt. Der Filterrückstand wird nochmals pulverisiert und dann mit Äther 6 Stunden extrahiert und filtriert. Hierauf folgt nochmals eine 3stündige Extraktion mit Alkohol, die verdunsteten Alkoholauszüge werden mit Äther aufgenommen und dem Ätherfiltrat hinzugefügt. Dann erhalten wir nach dem Verdunsten des letzteren das Rohfett. Es folgt die Phosphorbestimmung wie oben. Um zu erforschen, ob nach dem letzten Alkoholauszug noch Fett resp. Lecithin in der Substanz vorhanden wäre, habe ich den letzten Filterrückstand nochmals pulverisiert und mit Äther 3 Stunden heiß extrahiert. Ich erhielt, wie Tabelle IX zeigt, so geringe Mengen, z. B. 0,0016 Fett, daß sie für die Berechnung vernachlässigt werden konnten.

Da ich durch die Parallelversuche festgestellt hatte, daß bei der b-Methode nur geringe Mengen Fett mehr, aber kein P resp. Lecithin mehr erhalten wurde, habe ich die letzten 50 Analysen nach der Methode I ausgeführt. Von diesen habe ich wiederum bei den ersten 10 nach der Extraktion mit Chloroform die Substanz nochmals 6 Stunden mit absolutem Alkohol heiß extrahiert, die Ausbeute war aber so gering, daß sie für die Berechnung des P-Gehalts nicht in Frage kam. Diese 10 Analysen habe ich in der Tabelle VIII vereinigt.

Schließlich habe ich die Versuche von Glikin und Peritz an Knochemark von Paralytikern nachgeprüft und diese Analysen unter Tabelle I (Mensch) in der Tabelle Ia vereinigt. Ich konnte die Befunde von Glikin und Peritz, Schwund resp. Verarmung des Knochenmarks an Lecithin, bestätigen.

Tabelle I.

Mensch. Knochenmark aus dem Femur.

Nr.	Alter	Geschlecht	Menge der Substanz	Fettgehalt	Fettgehalt in %	$Mg_2P_2O_7$	Berechneter P-Gehalt	Gehalt des Fettes an P in %	Lecithingehalt	Lecithingehalt in %	Lecithingehalt des Fettes in %	Bemerkungen
1	1 Jahr	weibl.	2,0	0,1489	7,45	0,0050	0,00014	0,09	0,0363	1,817	2,44	Masernpneumonie: Mark rötlich, weich; Fett starr, braun.
2	7 „	„	14,0	0,3126	2,23	0,0158	0,00044	0,14	0,1149	0,820	36,75	Tuberkulose: Mark gelbrötlich, weich; Fett starr, braun.
3	9 „	„	3,0	1,0425	34,75	0,0058	0,00016	0,01	0,0421	1,405	4,04	Pneumonie: Mark gelbrötlich, weich; Fett starr, braun.
4	10$^1/_2$ „	männl.	4,0	1,6090	40,22	0,0110	0,00031	0,02	0,0799	1,998	4,97	Tuberkulose: Mark rötlich, weich; Fett gelb, starr.
5	29 „	„	20,0	3,6180	18,05	0,0085	0,00024	0,007	0,0617	0,308	1,70	Sarkomatose: Mark gelb, gallertig; Fett honigartig.
6	37 „	weibl.	22,0	4,1794	18,95	0,0150	0,00042	0,01	0,1090	0,450	2,63	Carcinom: Mark dunkelrot, weich; Fett honigartig.
7	53 „	männl.	13,0	9,6603	74,31	0,0078	0,00022	0,002	0,0567	0,436	0,59	Carcinom: Mark gelb, weichlich; Fett gelb, starr.
8	57 „	„	10,0	3,1343	31,34	0,0097	0,00027	0,009	0,0705	0,705	2,25	Carcinom: Mark rot, weichlich; Fett braun, honigartig.
9	57 „	„	10,0	6,5931	65,93	0,0107	0,00031	0,005	0,0777	0,778	1,18	Dasselbe Mark gelb; Fett braun, honigartig.
10	57 „	weibl.	13,9	10,0474	72,29	0,0100	0,00028	0,0003	0,0727	0,523	0,72	Carcinom: Mark gelb, weichlich; Fett halbflüssig, gelb.
11	60 „	männl.	25,0	17,6228	70,48	0,0080	0,00022	0,0001	0,0581	0,232	0,33	Phlegmone: Mark gelb; Fett gelb, starr.
12	73 „	„	14,0	8,5660	61,18	0,0065	0,00018	0,0002	0,0472	0,337	0,55	Pneumonie: Mark rot, fest; Fett hellgelb, flüssig.
13	73 „	„	14,0	11,5806	82,71	0,0085	0,00024	0,0002	0,0617	0,441	0,53	Dasselbe Mark gelb; Fett hellgelb, flüssig.

14	76 „	„	10,0	6,2160	62,16	0,0060	0,00017	0,0003	0,0436	0,436	0,70	**Carcinom:** Mark rot, fest; Fett honigartig.
15	76 „	„	10,0	7,4300	74,30	0,0055	0,00015	0,0002	0,0399	0,399	0,54	Dasselbe Mark gelb; Fett honigartig.

Das Maximum des Lecithingehaltes betrug 1,817%
„ Minimum „ „ „ 0,232%
„ Mittel aus allen Werten beim Menschen 0,672%

Das Maximum des Lecithins im Fett betrug 36,75%
„ Minimum „ „ „ „ „ 0,33%
„ Mittel aus allen Werten beim Menschen 3,99%

Tabelle Ia.

Mensch. Knochenmark aus dem Femur.

1	32 Jahr	männl.	10,0	0,8489	8,49	0,0081	0,00023	0,02	0,0588	0,588	0,69	**Paralyse:** Knochenmark gelatinös; Fett braun, flüssig.
2	33 „	„	10,0	8,0706	80,71	0,0040	0,00011	0,01	0,0291	0,291	0,36	**Paralyse:** Mark gelb, rot; Fett braun, flüssig.
3	37 „	„	10,0	7,2200	72,20	0,0038	0,00010	0,001	0,0276	0,276	0,38	**Paralyse:** Mark rötlich; Fett braun, flüssig.
4	37 „	„	10,0	5,7908	57,91	0,0049	0,00013	0,002	0,0356	0,356	0,63	**Paralyse:** Mark gelb, weichlich; Fett braun, flüssig.
5	27 „	„	10,0	5,6410	56,41	0,0110	0,00031	0,006	0,0799	0,799	1,41	**Paralyse:** Mark rötlich, gelb; Fett braun, flüssig.
6	36 „	„	10,0	5,5321	55,32	0,0080	0,00022	0,004	0,0581	0,581	1,52	**Paralyse:** Mark gelb; Fett braun, flüssig.

Tabelle II.

Rind. Knochenmark aus dem Femur.

1	Embryo 7 Mon.	männl.	25,0	2,6091	10,44	0,0112	0,00031	0,012	0,0814	0,326	3,12	Knochenmark dunkelrot, flüssig, Fett braun, flüssig.
2	7 „	weibl.	5,325	1,5065	28,44	0,0100	0,00028	0,018	0,0727	1,363	4,82	Mark rot, weichlich; Fett braun, starr.
3	$7^1/_2$ „	„	10,0	2,7100	27,10	0,0150	0,00042	0,015	0,1090	1,090	4,02	Mark rot, weichlich; Fett braun, flüssig.
4	8 „	männl.	6,07	0,9516	15,67	0,0065	0,00018	0,019	0,0472	0,778	4,96	Mark rot, flüssig; Fett honigartig.

Tabelle II (Fortsetzung).

Nr.	Alter	Geschlecht	Menge der Substanz	Fettgehalt	Fettgehalt in %	$Mg_2P_2O_7$	Berechneter P-Gehalt	Gehalt des Fettes an P in %	Lecithingehalt	Lecithingehalt in %	Lecithingehalt des Fettes in %	Bemerkungen
5	Embryo 8 Mon.	weibl.	10,0	0,7900	7,90	0,0110	0,00031	0,039	0,0799	0,799	1,01	Mark gelbrot, weichlich; Fett braun, starr.
6	8½ „	„	4,0	1,0065	25,16	0,0032	0,00008	0,008	0,0232	0,581	2,31	Mark rötlich, weichlich; Fett gelb, halbflüssig.
7	9 „	männl.	10,34	0,9655	9,33	0,0140	0,00039	0,040	0,1017	0,984	10,54	Mark rötlich, weich; Fett honigartig.
8	9 „	weibl.	4,0	1,0484	26,21	0,0052	0,00014	0,013	0,0378	0,945	3,60	Mark rot, flüssig; Fett honigartig.
9	9½ „	männl.	12,0	2,2817	19,01	0,0116	0,00033	0,015	0,0843	0,703	3,69	Mark rötlich, weich; Fett braun.
10	9½ „	weibl.	13,0	1,0531	8,10	0,0138	0,00039	0,039	0,1003	0,771	9,53	Mark gelbrötlich; Fett hellbraun, starr.
11	10 „	männl.	10,0	1,9600	19,60	0,0099	0,00028	0,014	0,0719	0,719	3,76	Mark gelbrötlich, weich; Fett braun, starr.
12	10 „	weibl.	20,0	3,1097	15,50	0,0074	0,00020	0,007	0,0537	0,208	1,73	Mark gelbrötlich, weich; Fett honigartig.
13	Kalb 2 Tage	männl.	20,0	4,2032	21,02	0,0133	0,00037	0,009	0,0966	0,484	2,30	Mark gelbrot, halbstarr; Fett braun.
14	4 „	„	6,0	1,2638	21,06	0,0054	0,00015	0,012	0,0392	0,653	3,11	Mark gelbrot, weich: Fett konsistent.
15	5 „	„	14,0	1,3580	9,70	0,0100	0,00028	0,020	0,0727	0,519	5,36	Mark gelb, weichlich; Fett braun.
16	8 „	weibl.	9,8	1,2712	12,97	0,0086	0,00024	0,019	0,0625	0,638	4,92	Mark rötlich; Fett hellbraun.
17	14 „	„	25,0	4,9230	19,69	0,0072	0,00020	0,004	0,0523	0,209	1,06	Mark rot, weich; Fett honigartig.
18	14 „	männl.	8,0	3,6159	45,20	0,0070	0,00020	0,006	0,0508	0,636	5,35	Mark rotgelb, talgartig; Fett braun, starr.
19	4 Woch.	„	20,0	13,8645	69,32	0,0092	0,00026	0,002	0,0668	0,313	0,48	Mark gelb, talgartig; Fett braun.
20	4 „	„	10,0	8,0600	80,60	0,0080	0,00022	0,003	0,0581	0,581	0,72	Mark gelb, starr; Fett hellbraun.
21	5 „	weibl.	9,0	7,8900	87,66	0,0058	0,00016	0,002	0,0421	0,468	0,52	Mark gelb, talgartig; Fett hellbraun.
22	6 „	männl.	17,5	14,1834	81,00	0,0060	0,00017	0,001	0,0436	0,249	0,38	Mark gelbweiß, weichlich; Fett gelb, flüssig.
23	6 „	weibl.	25,0	1,5726	6,29	0,0102	0,00028	0,018	0,0741	0,296	4,71	Mark gelatinös; Fett braun, starr. Tier stark abgemagert.
24	8 „	männl.	15,0	9,1583	61,05	0,0078	0,00022	0,002	0,0567	0,378	0,62	Mark gelb, fest; Fett gelb, flüssig.

25	Rind 5 Mon.	weibl.	25,0	0,2360	0,94	0,0074	0,00020	0,009	0,0537	0,215	22,79	Mark gallertig; Fett braun, starr. Tier stark abgemagert.
26	8 „	männl.	25,0	19,4094	77,60	0,0070	0,00020	0,0001	0,0508	0,203	0,26	Mark gelb, starr; Fett gelb, talgartig.
27	1 Jahr	„	25,0	21,2441	84,98	0,0052	0,00014	0,0007	0,0378	0,151	0,18	Mark gelbweiß, starr; Fett gelb.
28	$2^1/_2$ „	„	20,0	16,8419	84,20	0,0071	0,00020	0,0001	0,0516	0,258	0,36	Mark gelbweiß, starr; Fett honigartig.
29	3 „	„	25,0	21,3202	85,28	0,0042	0,00012	0,0012	0,0305	0,122	0,17	Mark weiß, fest; Fett hellbraun, talgartig.
30	4 „	weibl.	20,0	6,4428	32,20	0,0040	0,00011	0,0017	0,0290	0,145	0,45	Mark gelb, fest; Fett honigartig.
31	5 „	„	25,0	19,1140	76,46	0,0056	0,00015	0,0007	0,0407	0,163	0,21	Mark gelbweiß; Fett honigartig.
32	$5^1/_2$ „	„	20,0	16,0650	80,33	0,0072	0,00020	0,0012	0,0523	0,261	0,32	Mark gelbweiß; Fett braun, starr.
33	$5^1/_2$ „	„	20,0	16,7030	83,50	0,0052	0,00014	0,0008	0,0378	0,189	0,22	Mark gelbweiß; Fett braun, flüssig.
34	6 „	„	25,0	17,5626	70,25	0,0042	0,00012	0,0001	0,0305	0,122	0,17	Mark gelb, weichlich; Fett hellbraun, starr.
35	6 „	„	25,0	15,0966	60,39	0,0044	0,00012	0,0001	0,0319	0,128	0,21	Mark rotgelb, fest; Fett honigartig.
36	7 „	„	20,0	2,3360	11,65	0,0040	0,00011	0,0040	0,0290	0,145	1,24	Mark gelb, weichlich; Fett braun, starr.
37	8 „	„	20,0	11,2555	56,00	0,0042	0,00012	0,0010	0,0305	0,152	0,27	Mark gelb, weichlich; Fett braun, starr.

Das Maximum des Lecithingehaltes betrug 1,363%
„ Minimum „ „ „ 0,232%
„ Mittel aus allen Werten beim Rinde 0,458%

Das Maximum des Lecithins im Fett betrug 22,79%
„ Minimum „ „ „ „ „ 0,17%
„ Mittel aus allen Werten beim Rinde 2,96%

Tabelle III.

Schwein. Knochen aus Femur und Tibia.

1	Embryo 4 Mon.	weibl.	4,3	0,5381	12,51	0,0046	0,00013	0,024	0,0334	0,776	6,21	Mark dunkelrot, flüssig; Fett braun, starr.
2	Schwein 2 Mon.	„	10,0	6,1184	61,18	0,0070	0,00020	0,003	0,0508	0,508	0,83	Mark rot, weichlich; Fett honigartig.
3	3 „	„	12,32	7,8860	64,01	0,0077	0,00022	0,003	0.0559	0,454	0,71	Mark rot, weichlich; Fett braun.
4	4 „	„	7,0	3,4357	49,08	0,0082	0,00023	0,007	0,0596	0,846	1,74	Mark gelb, starr; Fett braun, weichlich.

Tabelle III (Fortsetzung).

Nr.	Alter	Geschlecht	Menge der Substanz	Fettgehalt	Fettgehalt in %	$Mg_2P_2O_7$	Berechneter P-Gehalt	Gehalt des Fettes an P in %	Lecithingehalt	Lecithingehalt in %	Lecithingehalt des Fettes in %	Bemerkungen
5	Schwein 6 Mon.	weibl.	9,0	7,0204	78,00	0,0038	0,00011	0,002	0,0276	0,307	0,39	Mark gelb, weiß, fest; Fett honigartig.
6	8 „	„	25,0	21,0964	84,39	0,0064	0,00018	0,0008	0,0465	0,186	0,22	Mark fest, weiß; Fett weiß, weichlich.
7	1 1/2 Jahr	„	25,0	19,3890	77,55	0,0060	0,00017	0,0009	0,0436	0,174	0,23	Mark fest, weiß; Fett gelb, flüssig.
8	2 „	„	25,0	18,4320	73,60	0,0055	0,00015	0,0008	0,0399	0,159	0,22	Mark weiß, talgartig; Fett gelb, flüssig.

Das Maximum des Lecithingehaltes betrug 0,776%
„ Minimum „ „ „ 0,159%
„ Mittel aus allen Werten beim Schwein 0,426%

Das Maximum des Lecithins im Fett betrug 6,21%
„ Minimum „ „ „ „ „ 0,22%
„ Mittel aus allen Werten beim Schwein 1,19%

Tabelle IV.

Schaf. Knochenmark aus Femur, Radius oder Tibia.

Nr.	Alter	Geschlecht	Menge der Substanz	Fettgehalt	Fettgehalt in %	$Mg_2P_2O_7$	Berechneter P-Gehalt	Gehalt des Fettes an P in %	Lecithingehalt	Lecithingehalt in %	Lecithingehalt des Fettes in %	Bemerkungen
1	3 Mon.	weibl.	7,0	4,3942	62,77	0,0047	0,00013	0,003	0,0341	0,488	0,77	Mark weiß, weichlich; Fett hell.
2	5 „	„	5,0	4,3822	87,64	0,0038	0,00011	0,003	0,0276	0,552	0,63	„ „ „ „ „ Tier stark abgemagert.
3	7 „	„	13,5	0,5120	3,79	0,0080	0,00022	0,043	0,0581	0,430	11,36	Mark weiß, weichlich; Fett hell.
4	1 Jahr	männl.	3,6	2,5128	69,77	0,0028	0,00008	0,003	0,0203	0,565	0,81	„ „ „ „ „
5	1 1/2 „	„	8,5	7,8950	92,87	0,0058	0,00016	0,002	0,0421	0,496	0,53	„ „ „ „ „
6	2 „	weibl.	20,0	13,2132	66,07	0,0078	0,00021	0,001	0,0567	0,283	0,42	„ „ „ „ „
7	2 1/2 „	„	25,0	15,6155	62,46	0,0068	0,00019	0,001	0,0494	0,198	0,31	„ „ „ „ „
8	3 „	„	3,5	3,2115	91,87	0,0018	0,00005	0,001	0,0130	0,374	0,40	„ „ „ „ „
9	4 „	„	25,0	15,6155	62,46	0,0063	0,00018	0,001	0,0458	0,183	0,29	„ „ „ „ „

Das Maximum des Lecithingehaltes betrug 0,565%
„ Minimum „ „ „ 0,183%
„ Mittel aus allen Werten beim Schafe 0,396%

Das Maximum des Lecithins im Fett betrug 11,36%
„ Minimum „ „ „ „ „ 0,29%
„ Mittel aus allen Werten beim Schafe 1,72%

Tabelle V.

Pferd.

1	6 Woch.	männl.	25,0	11,2806	45,12	0,0199	0,0055	0,005	0,1446	0,578	1,28	Mark gelbrot, weich; Fett honigartig.
2	6 Mon.	„	10,0	4,0516	40,51	0,0050	0,00018	0,004	0,0363	0,363	0,80	Mark gelbweiß, weichlich; Fett braun, starr.
3	9 „	„	10,0	8,2650	82,65	0,0063	0,00018	0,002	0,0457	0,458	0,55	Mark gelb, starr; Fett hellgelb, flüssig.
4	1 Jahr	„	20,0	7,2089	36,04	0,0128	0,00036	0,005	0,0930	0,465	1,29	Mark gelbrot, fest; Fett honigartig.
5	1½ „	weibl.	14,0	12,0962	86,40	0,0059	0,00017	0,001	0,0428	0,306	0,35	Mark hellgelb, fest; Fett braun, starr.
6	2 „	„	13,0	12,3417	93,20	0,0047	0,00013	0,001	0,0341	0,239	0,28	Mark gelb; Fett gelb, flüssig.
7	5 „	männl.	25,0	22,9940	91,97	0,0046	0,00013	0,0006	0,0334	0,134	0,15	Mark gelb, weichlich; Fett braun.
8	12 „	„	25,0	19,3590	77,44	0,0043	0.00012	0,0006	0,0312	0,125	0,16	„ „ „ „ „
9	18 „	„	25,0	0,2616	1,05	0,0068	0,00019	0,073	0,0494	0,198	18,80	Mark gallertig, bernsteinfarben; Fett honigartig. Tier stark abgemagert.

Das Maximum des Lecithingehaltes betrug 0,578%
„ Minimum „ „ „ 0,125%
„ Mittel aus allen Werten beim Pferde 0,316%

Das Maximum des Lecithins im Fett betrug 18,80%
„ Minimum „ „ „ „ „ 0,15%
„ Mittel aus allen Werten beim Pferde 2,63%

Tabelle VI.

Hund.

1	7 Mon.	männl.	8,0	5,9534	74,41	0,0080	0,00022	0,003	0,0581	0,728	0,97	Mark weiß, ölig; Fett hell, flüssig.
2	3 Jahr	„	2,0	1,7480	87,40	0,0042	0,00012	0,007	0,0305	1.526	1,74	„ „ „ „ „ „
3	5 „	weibl.	5,0	4,7024	94,04	0,0054	0,00015	0,003	0.0392	0.785	0,83	„ „ „ „ „ „
4	6 „	„	6,0	4,5060	75,10	0,0062	0,00017	0,004	0,0450	0,751	1,00	„ „ „ „ „ „
5	10 „	männl.	3,0	2,4848	82,80	0,0026	0,00007	0,0003	0,0189	0,630	0,76	„ „ „ „ „ „
6	12 „	„	6,0	3,4100	56,83	0,0048	0,00013	0,004	0,0348	0,583	1,02	„ „ „ „ „ „

Das Maximum des Lecithingehaltes betrug 1,526%
„ Minimum „ „ „ 0,583%
„ Mittel aus allen Werten beim Hunde 0,834%

Das Maximum des Lecithins im Fett betrug 1,74%
„ Minimum „ „ „ „ „ 0,76%
„ Mittel aus allen Werten beim Hunde 1,05%

Tabelle VII.

Katze. Knochenmark aus Femur und Tibia.

Nr.	Alter	Geschlecht	Menge der Substanz	Fettgehalt	Fettgehalt in %	$Mg_2P_2O_7$	Berechneter P-Gehalt	Gehalt des Fettes an P in %	Lecithingehalt	Lecithingehalt in %	Lecithingehalt des Fettes in %	Bemerkungen
1	1/2 Jahr	weibl.	1,59	0,5544	34,86	0,0048	0,00013	0,023	0,0349	2,195	6,27	Mark weiß, weichlich; Fett braun, starr.
2	1 „	„	2,3	1,5596	67,80	0,0044	0,00012	0,008	0,0319	1,390	2,05	Mark weich, weißlich; Fett braun, starr.
3	2 „	„	4,5	2,5284	56,19	0,0065	0,00018	0,007	0,0472	1,050	1,87	Mark weich, weißlich; Fett honigartig.
4	3 „	„	3,0	1,8824	62,74	0,0034	0,00009	0,0005	0,0247	0,823	1,31	Mark weich, weißlich; Fett braun, starr.
5	4 „	„	3,3	1,7375	52,65	0,0035	0,00009	0,0005	0,0254	0,771	1,47	Mark weich, weißlich; Fett flüssig.
6	5 „	„	4,0	2,3924	59,81	0,0042	0,00012	0,005	0,0305	0,763	1,27	„ „ „ „ „

Das Maximum des Lecithingehaltes betrug 2,195%
„ Minimum „ „ „ 0,763%
„ Mittel aus allen Werten bei der Katze 1,165%

Das Maximum des Lecithins im Fett betrug 6,27%
„ Minimum „ „ „ „ „ 1,27%
„ Mittel aus allen Werten bei der Katze 2,37%

Zusammenfassende Tabelle VIII.

Chloroform-Extraktion und folgende Alkohol-Extraktion.

		Menge der Substanz	Fettgehalt	Fettgehalt in %	$Mg_2P_2O_7$	Lecithingehalt	Lecithingehalt in %	Lecithingehalt des Fettes in %	Bemerkungen
1	Rind-Embryo, 8 Mon.	25,0	19,4094	77,60	0,0070	0,0508	0,203	0,26	Alkoholauszug — 0,0035
2	„ „ 10 „	20,0	3,1097	15,50	0,0074	0,0538	0,208	1,73	„ — 0,0034
3	„ 9 Mon.	4,0	1,0484	26,21	0,0052	0,0378	0,945	3,60	„ — 0,0025
4	Schaf, 1 Jahr	8,5	8,8950	92,87	0,0058	0,0422	0,496	0,53	„ — 0,0023
5	Mensch, 37 Jahre . .	22,0	4,1794	18,95	0,0150	0,1091	0,450	2,63	„ — 0,0018
6	Rind, 7 Jahre	20,0	2,3360	11,65	0,0040	0,0290	0,145	1,24	„ — 0,0027
7	Rind-Embryo, 9 1/2 Mon.	10,0	1,9600	19,60	0,0099	0,0719	0,719	3,76	„ — 0,0047
8	Pferd, 1 1/2 Jahr . . .	14,0	12,0962	86,40	0,0059	0,0429	0,306	0,35	„ — 0,0044
9	Mensch, 73 „ . . .	14,0	8,5660	61,18	0,0065	0,0472	0,337	0,54	„ — 0,0032
10	„ 73 „ . . .	14,0	11,5806	82,71	0,0085	0,0617	0,441	0,53	„ — 0,0027

Vergleichende Tabelle IX.

a = Chloroform-Extraktionen.
b = Alkohol-Äther-Extraktionen.

Nr.	Art des Tieres	Alter	Geschlecht	Menge der Substanz	Fettgehalt	Fettgehalt in %	$Mg_2P_2O_7$	Lecithingehalt	Lecithingehalt in %	Lecithingehalt des Fettes in %	Bemerkungen
1a	Kalb	4 Tage	weibl.	6,0	1,2638	21,06	0,0054	0,0392	0,653	3,11	
1b	"	4 "	"	7,33	1,6860	23,00	0,0058	0,0422	0,703	2,50	Zweiter Ätherauszug — 0,0016
2a	Pferd	1 Jahr	männl.	20,0	7,2089	36,04	0,0128	0,0931	0,465	1,29	
2b	"	1 "	"	20,0	7,9938	40,00	0,0126	0,0916	0,458	1,15	" " — 0,0035
3a	Rind	6 "	weibl.	25,0	16,6090	66,43	0,0060	0,0436	0,174	0,29	
3b	"	6 "	"	25,0	17,0860	68,32	0,0055	0,0399	0,160	0,23	" " — 0,0055
4a	Kalb	4 Woch.	männl.	20,0	13,8645	69,32	0,0092	0,0669	0,334	0,48	
4b	"	4 "	"	20,0	13,5140	67,57	0,0086	0,0625	0,313	0,46	" " — 0,0038
5a	Rind	5 Mon.	weibl.	25,0	0,2360	0,94	0,0074	0,0538	0,215	22,79	
5b	"	5 "	"	25,0	0,3230	1,29	0,0070	0,0508	0,204	15,76	" " — 0,0016
6a	Rind-Embryo	7 "	"	5,325	1,5065	28,44	0,0100	0,0727	1,363	4,82	
6b	Rind-Embryo	7 "	"	5,650	1,4102	24,60	0,0095	0,0690	1,222	4,89	" " — 0,0020
7a	Rind-Embryo	9 "	"	10,34	0,9655	9,33	0,0140	0,1017	0,984	10,54	
7b	Rind-Embryo	9 "	"	10,16	0,9766	9,61	0,0122	0,0887	0,871	9,10	
8a	Stier	$2^1/_2$ Jahr	männl.	20,0	16,8419	84,20	0,0071	0,0516	0,258	0,36	
8b	"	$2^1/_2$ "	"	20,0	16,8474	84,23	0,0075	0,0545	0,273	0,32	
9a	Kuh	$5^1/_2$ "	weibl.	20,0	16,0650	80,33	0,0072	0,0523	0,261	0,32	
9b	"	$5^1/_2$ "	"	20,0	16,1240	80,62	0,0072	0,0523	0,261	0,32	
10a	Kalb	8 Woch.	männl.	15,0	9,1583	61,06	0,0118	0,0858	0,672	0,82	
10b	"	8 "	"	15,0	9,1884	61,25	0,0112	0,0814	0,542	0,88	
11a	"	14 Tage	weibl.	8,0	3,6159	45,20	0,0074	0,0538	0,672	1,49	
11b	"	14 "	"	8,0	3,6654	45,81	0,0072	0,0523	0,653	1,43	
12a	Schwein	4 Mon.	"	7,0	3,4357	49,08	0,0082	0,0596	0,851	1,73	
12b	"	4 "	"	7,0	3,4809	49,72	0,0086	0,0625	0,892	1,79	

Jedenfalls sind alle Methoden zur quantitativen Bestimmung des Lecithins im streng chemischem Sinne noch unvollkommen, insofern einerseits durch keine der betreffenden Methoden alles Lecithin ausgezogen wurde, andrerseits bei den komplizierten Methoden geringe Verluste unvermeidlich sind. Jedoch reichte die von mir angewandte Methode aus, um die mir gestellten Fragen zu beantworten. Für die Beurteilung dieser Fragen schien mir die Ausführung einer möglichst großen Zahl von Analysen von großer Bedeutung zu sein. Das Ergebnis meiner Versuche ist, kurz zusammengefaßt, folgendes:

I. Die Bildung des Knochenmarks beginnt bei Schweinefoeten etwa nach dem 4. Monat, bei Rinderfoeten im 7. Monat. Vor dieser Zeit ist die Markhöhle reichlich mit Knochenbälkchen durchsetzt, zwischen denen eine rötliche Flüssigkeit sich findet, aber kein flüssiges oder festes Mark.

II. Das Knochenmark der Schweinefoeten im Alter über 4 Monate und der Rinderfoeten über 6 Monate, sowie das der jungen Tiere zeigt dunkelrote, weichliche Beschaffenheit. Mit zunehmendem Alter tritt Fett an Stelle der roten Blutkörperchen, das Mark wird gelb und fest.

III. Das Lecithin ist ein ständiger Bestandteil des Knochenmarkfettes; jedoch bekam ich im allgemeinen niedrigere Werte als Glikin.

IV. Der Lecithingehalt im Knochenmark nimmt bei zunehmendem Alter ab. Meine Versuche bestätigen also die Resultate Glikins in dieser Hinsicht.

V. Ich konnte bei Paralytikern einem Schwund des Lecithins aus dem Knochenmark resp. Verarmung desselben an Lecithin feststellen. Diese Analysen bestätigten die Resultate, die Glikin und Peritz gefunden haben.

Literatur.

Nerking, diese Zeitschr. 10, 167, 1908.
Nerking, diese Zeitschr. 10, 193, 1908.
Vageler, diese Zeitschr. 17, 189, 1909.
Peritz, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therapie 5, 607, 1909.
Glikin, diese Zeitschr. 19, 270, 1909.
Hoppe-Seyler, Chem. Analyse 160, 1903.
Erlandsen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 77, 1903.
P. Mayer, diese Zeitschr. 1, 41, 1906.

Eigenschaften und Wirkungsweise des diastatischen Fermentes der Warmblüter.

Von

Emil Starkenstein.

(Aus dem pharmakologischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

Ausgeführt mit Unterstützung der „Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen".

(Eingegangen am 20. Januar 1910.)

I.

Die Existenz einer spezifischen Leberdiastase kann wohl heute als eindeutig erwiesen gelten. Ein Hinweis auf die einschlägigen Arbeiten von Friedl Pick[1]) und J. Wohlgemuth[2]) dürfte daher genügen, um von der Besprechung der diesbezüglichen Literatur Abstand nehmen zu können.

Nach Feststellung eines spezifischen amylolytischen Fermentes in der Leber konnten sich die Untersuchungen nun in in der Richtung bewegen, über die weiteren Eigenschaften des Ferments sowie über sein quantitatives Verhalten Aufschluß zu geben.

In diesen Untersuchungen über die Eigenschaften der Diastase sind gewisse Fehler unterlaufen, die auf Rechnung der Methodik zu setzen sind, und die daher die gewonnenen Resultate nicht eindeutig erscheinen lassen. Es möge daher vorerst die bei den bisherigen Untersuchungen verwendete Methodik sowie die von mir benützte näher besprochen werden.

---

[1]) Friedl Pick, Über das glykogenspaltende Ferment der Leber. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 163, 1903.

[2]) J. Wohlgemuth, Untersuchungen über die Diastasen. Diese Zeitschr. 9, 29, 1908.

II. Methodik.

Hinsichtlich des methodischen Teiles aller Fermentstudien haben wir zwei Momente zu beachten: die Gewinnung gut leistungsfähiger Fermentlösungen und die Methodik der Fermentbewertung.

Die Fermentlösungen wurden bisher derart gewonnen, daß man den zerhackten Leberbrei mit Alkohol fällte, nach Entfernung des Alkohols trocknete und der fein gepulverten Masse entweder direkt Stärke- und Glykogenlösung zusetzte oder erst mit Wasser, Glycerin oder Salzlösungen extrahierte. Zur Extraktion wurde häufig Fluornatrium verwendet (Huber und Arthus, Friedl Pick).

Für eine Reihe von Fermentstudien wurden die Preßsäfte der ausgespülten Organe verwendet [Paul Zegla[1])]. Bang benützte eine Aufschwemmung von frischem Leberbrei in physiologischer Kochsalzlösung, um das Fermentmilieu in möglichst unveränderter Form beizubehalten.

Eine Reindarstellung der Diastase ist bisher nicht gelungen.

Handelt es sich darum, qualitativ die Existenz des genannten Ferments zu beweisen oder allgemeine Eigenschaften desselben zu studieren, so dürften wohl alle die genannten Methoden zum Ziele führen. Für die Untersuchung des quantitativen Verhaltens der Fermente sowie zur Ermittlung der Wirkungsweise derselben muß aber doch eine jede derartige Methodik als unzureichend bezeichnet werden.

Bezüglich der Fällung mit Alkohol und der Extraktion der Leberpulver hebt Bang mit Recht hervor, daß man mit der Verwendung von Alkohol ein Moment einführt, das eine Beeinflussung der Fermentmenge in verschiedener Richtung bewirken kann (Fermentschädigung oder Entfernung einer Fermenthemmung).

Bei der Verwendung frischen Leberbreies spielt der Wassergehalt der Organe eine große Rolle bei der Bestimmung des Gewichtes und bei den großen Schwankungen desselben kann von vergleichbaren Resultaten keine Rede sein. Noch mehr aber fällt dieser Faktor bei der Untersuchung von Preßsäften in die Wagschale. Es bedeutet vor allem schon einen großen Fermentverlust, wenn der fein zerhackte Leberbrei vor dem Auspressen nochmals ausgewaschen wird, wie dies Zegla tat, da die leicht lösliche Diastase schon hier ins Waschwasser übergeht; deutlicher aber beweist die Unzulässigkeit der Verwendung von Organpreßsäften für quantitative Fermentbestimmung der Umstand, daß bei dieser Methodik bald reichliche Mengen von Flüssigkeit gewonnen werden, bald aber bei gleich großer Leber so wenig, daß sie kaum für zwei Versuche genügen.

So ergibt sich, daß ein quantitatives Arbeiten mit frischen tierischen Organen unmöglich ist, namentlich dann, wenn ein Vergleich homologer und heterologer Organe verschiedener Individuen gleicher oder verschiedener Art beabsichtigt wird, da neben dem Wassergehalt auch der Gehalt an lipoiden Stoffen einen derartigen Vergleich erschwert.

---

[1]) Paul Zegla, Untersuchungen über das diastatische Ferment der Leber. Diese Zeitschr. 16, 111, 1909.

Weiterhin ist die leichte Veränderlichkeit der Organe nach dem Tode sowohl hinsichtlich der Eiweißkörper als der Fermente für viele Untersuchungen sehr erschwerend. Diese Überlegungen veranlaßten Wiechowski[1], in unserem Laboratorium eine Methode zur Untersuchung überlebender Organe auszuarbeiten, die allen Anforderungen einer Arbeitsmethode zur quantitativen Fermentuntersuchung entspricht und die ich nun auch in den nachfolgenden Versuchen benützte. Bezüglich der Einzelheiten sei auf das Original verwiesen.

Der Gang der Untersuchung ist kurz folgender: Die Leber des frisch getöteten Tieres wird in situ von der Vena cava aus mit physiologischer Kochsalzlösung, eventuell nachfolgend mit Wasser blutfrei gespült, durch ein feines Sieb passiert, auf große Glasplatten in möglichst dünner Schicht gestrichen und mittels Ventilator im starken Luftstrom bei Zimmertemperatur getrocknet, was gewöhnlich nach $^1/_2$ bis 1 Stunde geschehen ist. Dies Organpulver wird hierauf in der Kälte in dem von Wiechowski konstruierten Extraktionsapparat[2] mit Toluol völlig extrahiert. Auf diese Weise gewinnt man ein Organpulver, das eine feine, wägbare Masse darstellt, frei von Fetten und den anderen toluollöslichen Lipoiden ist und Eiweißkörper und Fermente unverändert löslich und haltbar enthält. Nur die Organsalze begleiten die im übrigen auch von Farbstoffen fast freien Organproteine. Dieses Organpulver stellt somit für quantitative Fermentstudien ein ideales Ausgangsmaterial dar.

Zur weiteren Untersuchung wird nun eine abgewogene Menge des Pulvers mit einer abgemessenen Menge physiologischer Kochsalzlösung in einer entsprechenden Mühle gemahlen, so daß man eine Emulsion oder Suspension von stets gleicher Fermentkonzentration erhält, die so fein ist, daß sie nur sehr langsam einen Bodensatz absetzt und daher mit Meßgefäßen gemessen und genau verteilt werden kann. Dadurch ist eine genaue Dosierung und ein Vergleich der Wirksamkeit desselben Organs verschiedener Individuen ermöglicht.

Diese Methodik wurde bereits von Wiechowski und Wiener[3]) zum Studium des harnsäurezerstörenden Ferments mit bestem Erfolge verwendet.

In zweiter Linie käme nun die Methodik der quantitativen Fermentbewertung in Betracht.

Zur Bestimmung der Leistungsfähigkeit des Ferments hat die Mehrzahl der Autoren den entstandenen Zucker nach einer der bekannten

---

[1]) Wiechowski, Eine Methode zur chemischen und biologischen Untersuchung überlebender Organe. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 232, 1907. Siehe ferner: Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, 3, I, 282, 1909.

[2]) Wiechowski, l. c.

[3]) W. Wiechowski und H. Wiener, Über Eigenschaften und Darstellung des harnsäurezerstörenden Ferments der Rinderniere und Hundeleber. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 247, 1907.

Methoden bestimmt, andere den Glykogenrückstand. Weitere quantitative Bestimmungen wurden dem Mettschen Verfahren der Pepsinbestimmung nachgebildet oder es wurde bei Verwendung von Stärke statt des Glykogens eine colorimetrische Messung und Bewertung der Stärkejodfärbung zur Messung der diastatischen Kraft herangezogen.

Die meisten der genannten Methoden sind mit Fehlerquellen verbunden, die Wohlgemuth[1]) durch ein neues colorimetrisches Verfahren nach Möglichkeit zu umgehen sucht. Bezüglich der Ausführung der Methode möge im Original nachgelesen werden. (Dort auch Literatur über früher verwendete Methoden zur quantitativen Diastasebestimmung.)

Die Methode Wohlgemuths besteht darin, daß man Reagensgläser mit absteigenden Mengen der Fermentlösung und mit der gleichen Menge 1%iger Stärkelösung versetzt und unter gleichen Bedingungen hinsichtlich Zeit und Temperatur wirken läßt. Nach beendigter Digestion werden die Röhrchen mit Wasser aufgefüllt und dann mit 1 Tropfen $^n/_{10}$-Jodlösung versetzt. Das Auftreten eines blauen Farbentons beweist noch das Vorhandensein von unverdauter Stärke und gilt als limes. Die Fermentmenge des vorhergehenden Röhrchens dient zur Berechnung der diastatischen Kraft, berechnet auf 1 ccm Fermentlösung und Anzahl Kubikzentimeter der 1%igen Stärkelösung. In dem Versuch der folgenden Tabelle I zersetzen 0,25 ccm gerade 5 ccm 1%ige Stärkelösung, 1 ccm derselben Fermentlösung würde also die 4fache Stärkemenge hydrolysieren; folglich ist $D^{38°}_{24^h} = 20$.

Diese Methodik ist in dieser Form zur Bestimmung relativer Diastasemengen im Speichel und Blutserum gut geeignet, nicht aber in Organpreßsäften und Organplasmen.

Wohlgemuth und besonders Zegla (l. c.) erwähnen bereits, daß nach dem Herausnehmen der Gläser aus dem Thermostaten diese einen trüben Bodensatz zeigen, der von ausgefallenen Eiweißstoffen der Leber herrührt; man darf daher nicht direkt mit Wasser auffüllen und mit Jodlösung versetzen, sondern muß, um klare Lösungen für die Endreaktion zu erhalten, die über dem trüben Satz stehende Flüssigkeit abgießen und sie mit Wasser verdünnen. Für den Ausfall der Jodreaktion sei es gleichgültig, ob man die Trennung der klaren Flüssigkeit von dem trüben Satz quantitativ vornimmt oder $^1/_2$ bis 1 ccm von ihr im Reagensglas zurückläßt.

Das Entfernen des trüben Satzes vor dem Jodzusatz bedeutet aber einen methodischen Fehler, der besonders bei den Untersuchungen Zeglas deutlich zum Ausdruck kommt.

In dem erwähnten trüben Bodensatz haben wir den von Pohl[2]) beschriebenen und studierten Organeiweißkörper vor uns, der bereits bei

---

[1]) Diese Zeitschr. 9, 1, 1908.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 381, 1906.

37° auskoaguliert.[1]) Stellt man den Versuch derart an, wie ihn Zegla beschrieb, so erhält man nach dem Dekantieren tatsächlich klare Lösungen, die auf Jodzusatz deutliche Farbenunterschiede von weiß bis blau aufweisen. Als Beispiel diene folgender Versuch.

Tabelle I.

Kaninchenleber Nr. 34. Versuch Nr. 170.

Menge des Preßsaftes	Sofort untersucht
1,0	+
0,64	+
0,4	+
0,25	+
0,16	limes
0,1	—
	$D_{24^h}^{38^0} = 20$

Wenn man aber das ausgefallene Organeiweiß derselben Probe in wenig Wasser aufschwemmt und gleichfalls mit Jod versetzt, so tritt fast in allen Röhrchen Blaufärbung auf. Somit ist die obige Zahl falsch. Durch den koagulierenden Eiweißkörper wird Stärke adsorbiert, die so der Fermenteinwirkung entzogen wird. Aber auch Ferment selbst wird, wie wir später sehen werden, vom Organeiweiß mitgerissen, was naturgemäß bei der Deutung derartiger Versuchsresultate mit in Frage kommt.

Diese Beobachtung hat sich bei zahlreichen Versuchen bestätigt, und es mußte daher eine Änderung der Methodik vorgenommen werden, sollte sie für die Diastasebestimmung in Organplasmen verwendbar sein.

Ohne die Methode in ihrem Prinzipe zu ändern, wurde dies dadurch erreicht, daß die Reagensgläschen während der ganzen Zeit der Digestion in einem Schüttelapparat bei Brutschranktemperatur in fortwährender mäßiger Bewegung gehalten wurden, so daß Ferment und Substrat in dauerndem Kontakt blieben. Da die Verwendung der Organpulver eine Änderung der Konzentration ermöglichte, so wurden 3 bis 5%ige Organaufschwemmungen verwendet. Von diesen wurden Reihen von 3 ccm abfallend in geometrischer Progression mit dem von Wohlgemuth verwendeten Quotienten von 1,6 mit 5 ccm einer 0,5%igen Stärkelösung beschickt und bereits nach 5stündigem Schütteln bei 38 bis 40° brauchbare und einwandfreie Versuchsresultate erzielt. Das auch hier in den ersten Gliedern der Reihe ausgefallene Organeiweiß blieb abfiltriert auf Jodzusatz farblos, was bei einer gleichkonzentrierten, im Thermostaten stehenden Probe nicht der Fall war.

So gestattet denn das Arbeiten mit Organpulvern in Verbindung mit Motorschüttlung und der Bestimmungsmethode Wohlgemuths, die

[1]) Auch in der Zusammenstellung über die tierischen Proteine in Oppenheimers Handbuch der Biochemie ist dieser wichtige Befund nicht erwähnt.

quantitativen Verhältnisse der Leberdiastase genauer zu studieren, als dies bisher geschehen war.

Wichtig für die Beurteilung der Fermentwirkung war die Frage, ob die Konzentration der Fermentlösung für deren Wirkung von Bedeutung ist.

Zur Beantwortung dessen wurde nach der Methode Wohlgemuths der Diastasegehalt eines Organplasmas in einer Reihe von 6 Röhrchen bestimmt. In einer zweiten Reihe wurden von derselben Fermentlösung gleiche Mengen genommen, alle Röhrchen jedoch mit destilliertem Wasser auf ein gleiches Volumen gebracht.

Die Resultate in beiden Reihen waren vollkommen gleich, so daß also ein Einfluß der Diastasekonzentration auf die Wirkung — wenigstens für eine bestimmte Fermentmenge — nicht besteht.

III. Die Mengenverhältnisse der Leberdiastase in der Zeit nach dem Tode.

Wohlgemuth kam in seinen Diastasestudien zu dem Schlusse, daß die Diastasen des Speichels, des Blutes und des Pankreas identisch sind, sowie zu der mit großer Wahrscheinlichkeit berechtigten Annahme, daß wir es im Organismus überhaupt nur mit einer einzigen Diastase zu tun haben. Die Untersuchungen Zeglas über die Mengenverhältnisse der Leberdiastase nach dem Tode und in den darauf folgenden Stunden führten den Autor zu dem Schluß, daß die Menge der Diastase in der bei Zimmertemperatur unter Toluol aufbewahrten Leber während der Zeit nach dem Tode abnimmt, und zwar in der Regel innerhalb der ersten 24 Stunden. Ein nochmaliger Fermentschwund wurde nicht beobachtet. Dieser Fermentverlust kann bis zu 60% betragen.

Diese Befunde Zeglas würden aber zwischen Leberdiastase und Speicheldiastase einen prinzipiellen Unterschied bedeuten; denn Wohlgemuth fand, daß Speichel, der 6 Monate bei Zimmertemperatur gestanden hat, an seiner Wirksamkeit nichts einbüßte, ebenso bleibt dem Serum die diastatische Kraft monatelang in uneingeschränktem Maße erhalten. Der Befund Zeglas, daß die Abnahme der Leberdiastase nur in den ersten 24 Stunden, höchstens in den folgenden, nie aber später erfolge, legte die Vermutung nahe, daß diese Abnahme ebenfalls auf Kosten des ausfallenden Organeiweißes zu setzen sei. Diese Annahme wurde durch folgende Versuche bestätigt.

Tabelle II.

3%ige Kaninchenlebersuspension Nr. 30. Versuche Nr. 140 bis 143.

Menge der Suspension	Sofort untersucht	Nach 24stünd. Stehen im Eiskasten	Nach 48h	Anmerkung
3	+	+	+	Jedes Röhrchen +5 ccm 1%iger Stärke im Brutschrank. Längere Zeit geschüttelt.
1,88	+	+	+	
1,17	+	+	+	
0,73	+	+	+	
0,46	+	+	+	
0,29	limes	limes	limes	
0,18	—	—	—	

Tabelle III.

5%ige Kaninchenlebersuspension Nr. 41. Versuche Nr. 248 und 253.
+ 5 ccm 0,5%iger Stärkelösung 5 Stunden bei 40° geschüttelt.

Menge der Suspension	Sofort untersucht	Nach 24h Stehen im Eisschrank	Abzentrifugiertes Plasma nach 24h
3	+	+	+
1,88	+	+	+
1,17	+	+	+
0,73	+	+	+
0,46	limes	limes	limes
0,29	—	—	—
0,18	—	—	—

Die in Tabelle II und III mitgeteilten Versuche zeigen, daß tatsächlich eine Lebersuspension, die in der Kälte aufbewahrt wird, auch nach 48 Stunden nichts an Wirksamkeit verloren hat. Nun wissen wir aber, daß der Pohlsche Organeiweißkörper schon bei längerem Stehen bei Zimmertemperatur auskoagulieren kann. Diese Tatsache dürfte also auch die von Zegla beobachtete Fermentabnahme in den ersten 24 Stunden erklären, wobei es sich allerdings um keinen Fermentschwund handelt, sondern bloß um eine Adsorption von Ferment durch Organeiweiß, das so der Einwirkung auf Stärke entzogen wird.

Nach 48 Stunden, wo gewiß alles Organeiweiß auskoaguliert ist, bleibt die diastatische Kraft unverändert.

Wir sehen also, daß sich auch in diesem Punkte die Leberdiastase wie die Speicheldiastase verhält, was die Annahme von der Identität der Diastasen des Körpers nur unterstützen kann.

IV. Das Verhalten der Leberdiastase zum Organplasma und bei der Alkoholfällung.

Es wurde bereits erwähnt, daß die Fermentquantitäten des Organpreßsaftes in keinem Verhältnis stehen zu der tat-

sächlich in der Leber vorhandenen Fermentmenge. Der Leberpreßsaft stellt einen Teil des gesamten Leberplasmas dar. Das Vorhandensein der Diastase im Leberpreßsaft beweist also, daß das Ferment ins Organplasma übergehen kann, jedoch haben wir keine Vorstellung davon, ob dieser Übergang ein quantitativer oder nur ein partieller ist. Um hierüber Aufschluß zu erlangen, wurde eine 3%ige Leberpulversuspension 24 Stunden in die Kälte gestellt, nachher das Plasma abzentrifugiert, der Rückstand auf der Zentrifuge gewaschen und ebenfalls zu 3% in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Plasma und Suspension des Rückstands wurden hierauf auf ihre diastatische Kraft geprüft.

Aus den Versuchen in Tabelle IV geht hervor, daß der Rückstand vollkommen unwirksam war, daß also tatsächlich die Leberdiastase quantitativ ins Organplasma übergeht.

Tabelle IV.

Kaninchenlebersuspension Nr. 1. Versuche Nr. 5 und 6.
Mit 5 ccm 0,5%iger Stärkelösung 4 Stunden bei 40° geschüttelt.

Menge	3%iges Organplasma	3%ige Suspension des Rückstands
3	+	—
1 88	+	—
1,17	limes	—
0,73	—	—
0,46	—	—
0,29	—	—

Desgleichen geht aus den Versuchen in Tabelle III hervor, daß das Plasma nach 24 Stunden die gleiche Wirksamkeit besaß wie die Lebersuspension. Doch beobachtete ich in einigen Versuchen, daß der quantitative Übergang der Diastase ins Organplasma oft längere Zeit braucht. Es scheint dies von der Konzentration der Lebersuspension abzuhängen.

Wir haben somit in der Leberdiastase ein Ferment vor uns, das in den Zellen gelöst ist zum Unterschied vom harnsäurezerstörenden Ferment, das erst nach Aufschluß der Zellen durch Alkali ins Plasma übertritt (Wiechowski und Wiener l. c.). Auf diesen Unterschied im Verhalten der Fermente soll in einer späteren Mitteilung näher eingegangen werden.

Friedl Pick und andere Autoren haben, wie bereits erwähnt, bei ihren Untersuchungen über die Leberdiastase diese mit Alkohol gefällt und dann mit Salzlösungen extrahiert.

Bang nahm von der Alkoholfällung Abstand, da er durch diesen Prozeß eine Beeinflussung der Fermenttätigkeit vermutete und tattatsächlich in einigen nach dieser Richtung angestellten Versuchen auch beobachtete.

Ich versuchte daher, durch die folgenden Versuche festzustellen, in welcher Beziehung diese Beeinflussung der Diastase durch Alkohol erfolge.

Es wurde zu diesem Zwecke die diastatische Kraft eines Kaninchenleberplasmas geprüft (I), dieses hierauf mit Alkohol gefällt, einige Stunden stehen gelassen, filtriert, der Rückstand mit Alkohol und Äther gewaschen und der Äther durch Toluol verdrängt. Das so erhaltene weiße Pulver wurde getrocknet und hierauf in der Konzentration des Ausgangsplasmas wiederum mit physiologischer Kochsalzlösung in der Farbenmühle gemahlen. Nun wurde neuerdings filtriert und im Filtrat wiederum die diastatische Kraft bestimmt (II). Die Resultate dieser mit ziemlicher Übereinstimmung vorgenommenen Versuche sind in Tabelle V und VI zusammengestellt. Daraus geht hervor, daß die Extrakte der Alkoholfällungen diastatisch wirksamer sind als die Ausgangsplasmen. Eine Schädigung der Diastase durch Alkohol erfolgt also nicht, hingegen scheinen in den Alkohol aus dem Plasma Körper überzugehen, die eine Hemmung der Fermentwirkung bedeuten.

Tabelle V.

3%iges Kaninchenleberplasma Nr. 31. I. nativer Versuch Nr. 151. II. Versuch 152. Filtrat der Alkoholfällung. + je 5 ccm 1%iger Stärkelösung 24 Stunden im Thermostaten. Häufig geschüttelt.

Menge der Fermentlösung	I.	II.
3	+	+
1,88	+	+
1,17	+	+
0,73	+	+
0,46	limes	+
0,29	—	+

Tabelle VI.

3%iges Kaninchenleberplasma Nr. 33. Versuch I. Nr. 168. Versuch II. Nr. 169. Wie in Tabelle V.

Menge der Fermentlösung	I.	II.
3	+	+
1,88	+	+
1,17	+	+
0,73	+	+
0,46	limes	+
0,29	—	limes

V. Die Wirkungsweise der Diastase.

Nach Erhebung dieser allgemeinen Eigenschaften der Diastase versuchte ich nun die Feststellung ihres Wirkungsgrades. Hierzu genügt es jedoch nicht, die Grenze der geringsten Fermentleistung festzustellen, wie dies bei der Diastasebestimmung nach Wohlgemuth der Fall ist, sondern es ist dazu die quantitative Bestimmung der Endprodukte der Fermentwirkung notwendig.

Die Bestimmung der Summe der gebildeten reduzierenden Substanzen hat wohl den Nachteil, daß sie die Zwischenstufen der Hydrolyse des Substrats, die, wie Achrodextrin, ebenfalls reduzieren, in ungleichmäßiger Weise mit bestimmt, doch ist dieser Fehler bei den folgenden Versuchen so gering, daß er für die Bewertung der Endreaktion nicht in Betracht kommt.

Es hat sich am zweckmäßigsten erwiesen, diese Bestimmungen mit Speicheldiastase in Form von filtriertem Speichel und Glykogen auszuführen, da dies in kurzer Zeit und in fast eiweißfreier Lösung geschehen kann. Es wurden daher die einzelnen Reagensröhrchen in Eiswasser gestellt, mit Glykogenlösung und Speicheldiastase beschickt, gleichzeitig in den Thermostaten gestellt und dann in den einzelnen Röhrchen die reduzierenden Substanzen nach Bang bestimmt und auf Traubenzucker berechnet.

Bei Feststellung der Wirkungsweise der Diastase haben wir folgende Momente zu beachten: Von den in Betracht kommenden Faktoren: Fermentmenge und Glykogenmenge können der erste, der zweite oder gleichzeitig beide variiert werden, natürlich bei stets gleichbleibender Dauer der Einwirkung.

Zu den Versuchen wurde eine Aufschwemmung von Glykogen Merck verwendet, von der 5 ccm 0,0511 g Glykogen = 0,0552 g Traubenzucker enthielten.

Versuch Nr. 233.

Es wurden 4 Röhrchen mit 5 bzw. 10 ccm der Glykogenlösung beschickt, sowie mit 2 bzw. 4 ccm einer verdünnten Lösung von Speicheldiastase; jedes Röhrchen wurde mit physiologischer Kochsalzlösung auf 20 ccm aufgefüllt, dann 30 Minuten im Thermostaten der Digestion überlassen und hierauf der gebildete Traubenzucker nach Bang bestimmt. Das Resultat des Versuches zeigt Tabelle VII.

Tabelle VII.

Röhrchen	Zugesetzte Glykogenlösung		Diastaselösung	Nach der Digestion bei 38°
	ccm	= Traubenzucker	ccm	= Traubenzucker
I	5	0,0552	2	0,0216
II	5	0,0552	4	0,0312
III	10	0,1104	2	0,0312
IV	10	0,1104	4	0,0500

Betrachten wir die gewonnenen Resultate in Röhrchen I und II, so zeigt sich, daß die doppelte Fermentmenge nicht imstande ist, die doppelte Glykogenmenge zu zersetzen, obwohl genügend Substrat hierzu vorhanden gewesen wäre. Wir haben hier die gleiche Wirkungsart, wie sie Wiechowski und Wiener für das harnsäurezerstörende Ferment beobachteten, und dies führt uns hier zu dem gleichen Schluß wie die genannten Autoren: Wenn man bedenkt, daß die doppelte Fermentmenge sicherlich die doppelte Glykogenmenge zersetzen würde, wenn man dieselbe in 2 Röhrchen verteilen würde, und nach Ablauf der Digestion die Reaktionsprodukte vereinigen würde, so kommt man zu dem Schlusse, daß die Zersetzungsgröße nicht allein mit der Fermentmenge, sondern auch mit der Menge des vorhandenen Glykogens zunimmt. Dafür spricht auch das Resultat in Röhrchen III, wo die gleiche Fermentmenge wie in Röhrchen I bei doppelter Glykogenmenge ebensoviel Zucker bildete wie die doppelte Fermentmenge bei einfacher Glykogenmenge in Röhrchen II. Verdoppelt man aber gleichzeitig Ferment- und Glykogenmenge (I, IV), so erhält man annäherungsweise die doppelte Zersetzungsgröße.

Es geht also aus diesem Versuch, den ich dreimal mit gleichem Resultat wiederholt habe, hervor, daß der Umfang der Zersetzung in gleichen Zeiten nicht nur von der Fermentmenge, sondern auch von der verfügbaren Menge des Substrats abhängig ist.

Bezüglich der Frage, ob die Diastase bei ihrer Wirkung verbraucht wird, geben folgende Versuche Aufschluß.

Versuch Nr. 238.

Von einem Kaninchenleberplasma wurden analog den früher mitgeteilten Versuchen 2 Reihen von 6 Röhrchen 5 Stunden bei 40° geschüttelt unter Zusatz von je 5 ccm 0,5%iger Stärkelösung. Nach dieser Zeit wurde in der einen Reihe die Zersetzungsgröße durch Jodzusatz bestimmt, und limes im 3. Röhrchen gefunden. Nun wurden der 2. Reihe abermals je 5 ccm Stärkelösung zugesetzt und weitere 5 Stunden unter gleichen Bedingungen geschüttelt. Die neuerliche Prüfung mit Jod war der ersten Reihe vollkommen entsprechend. Die Fermentmenge in Röhrchen 2 hat also das erstemal gerade ausgereicht, um 5 ccm der Stärkelösung zu zersetzen. Ein Überschuß von Ferment war gewiß nicht vorhanden. In weiteren 5 Stunden hat dieselbe Fermentmenge

abermals die gleiche Stärkemenge hydrolysiert, ein Beweis, daß die Diastase durch ihre Tätigkeit nicht verbraucht wird.

Dasselbe beweist der folgende Versuch:

Versuch Nr. 256.

Wie in dem eben angeführten Versuch werden 2 Reihen zu 6 Röhrchen mit einem Kaninchenleberplasma + je 5 ccm 0,5%iger Stärkelösung 5 Stunden bei 40° geschüttelt. In Reihe 1 limes bei Röhrchen 3. Die 6 Röhrchen der 2. Reihe werden nun mit etwas Amylum oryzae ausgeschüttelt, wodurch, wie später genauer ausgeführt werden soll,[1] eine Adsorption des Fermentes durch die unlösliche Reisstärke erfolgt. Hierauf wurde zentrifugiert und der Rückstand mit physiologischer Kochsalzlösung, das Filtrat wiederum mit je 5 ccm der Stärkelösung geschüttelt unter gleichen Bedingungen wie vordem. Nachher ergab einerseits die Prüfung mit Jod, daß auch in den ersten 2 Röhrchen die Stärke nicht mehr angegriffen wurde, dagegen zeigten die Filtrate der ersten 2 Röhrchen der unlöslichen Stärkeaufschwemmung deutliche Reduktion. Das Ferment war also auch diesmal bei der Zersetzung der gelösten Stärke nicht verbraucht worden; es wurde durch die Reisstärke adsorbiert und hat in einer Aufschwemmung derselben neuerdings seine Wirkung entfaltet.

Nachdem wir nun einigermaßen über die Wirkungsweise der Diastase orientiert waren, konnten wir es versuchen, auch über ihr quantitatives Verhalten bei verschiedenen vitalen Störungen Aufschluß zu erlangen. Zur Aufstellung eines Wirkungsgesetzes bedarf es noch weiterer Versuche.

VI. Das Verhalten der Leberdiastase bei experimentellen Glucosurien und bei verschiedenen Eingriffen.

Bang, Ljungdahl und Bohm[2]) haben es als erste versucht, aus dem Glykogenumsatz in der Leber Schlüsse auf die Menge des diastatischen Fermentes zu ziehen. Sie legten sich vor ihren Untersuchungen wohl selbst die Frage vor, ob eine genügend vergleichbare Bestimmung der Fermentwirkung ausführbar ist und ob man aus dem beobachteten Glykogenumsatz überhaupt auf eine bestimmte Fermentquantität schließen kann. Die Autoren anerkennen ferner selbst die Schwierigkeit derartiger Untersuchungen bei Unkenntnis des Wirkungsgesetzes, glauben aber doch aus dem prozentualen Glykogenumsatz annähernd auf die Fermentmenge schließen zu können.

---

[1]) Siehe die folgende Arbeit.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 418, 1907.

In diesem Sinne untersuchten nun die Autoren[1]) den Glykogenumsatz bei normalen Tieren, Hungertieren, bei experimentellen Glucosurien, bei Tieren, die durch Nackenschlag, bei solchen, die durch Verbluten getötet wurden usw. Ihre Methodik war kurz die, daß eine abgewogene Menge frischen Leberbreis mit Glykogenzusatz in den Thermostaten gestellt und nachher das Glykogen zurückbestimmt wurde. Leider unterläuft dieser Methodik ein Fehler ähnlich wie bei den Untersuchungen Zeglas. Auch hier wird nämlich, wie ich mich überzeugte, durch den auskoagulierenden Pohlschen Organeiweißkörper Glykogen mitgerissen, das so der Fermentwirkung entgeht; dieser Fehler läßt sich durch dauerndes Schütteln während der Digestion vermeiden.

Wenn man aber die Tabellen in den Arbeiten der genannten Autoren näher betrachtet, so geht z. B. aus Tabelle I (Normalwerte) hervor, daß bei Lebermengen von 60 bis 185 g der Durchschnittswert des Glykogenumsatzes aus den Zahlen von 0,37 bis 1,30 genommen ist, entsprechend einem prozentuellen Umsatz von 2,3 bis 9,3.

Diese Differenz der Grenzwerte beweist wohl schon genügend, daß bei ein und derselben Versuchsreihe ziemlich bedeutende Schwankungen vorkommen. Allerdings heben die Autoren selbst hervor, daß man nur aus mehreren Tierversuchen bestimmtere Folgerungen ziehen kann.[2])

Nun geht aber aus der oben mitgeteilten Wirkungsart der Diastase mit aller Bestimmtheit hervor, daß man auf den Fermentgehalt einer Leber im Vergleich zu einer andern nur dann schließen kann, wenn man sowohl Leber, also Fermentmenge, wie auch Glykogenmenge vollkommen gleich wählt, ceteris paribus und abgesehen von den Fehlern, die das Arbeiten mit frischen Organen in sich birgt. Man kann aber unter keiner Bedingung[3]) 60, 72, 102, 125, 133, 185 g Leber + 4, 5, 8,1, 16,3, 16,1, 23,5 g Glykogen mit 60, 65, 85, 65, 48, 50 g Leber + 0,336, 0,156, 3,700, 0,156, 0,123, 0,600 g Glykogen vergleichen.

Von den vielen Eingriffen und experimentellen Glucosurien, die nach den Befunden der genannten Autoren, zum Teil auch nach den Versuchsergebnissen Zeglas eine Fermentvermehrung in der Leber bedingen sollen, habe ich einige in zahlreichen Ver-

---

[1]) Bang, Ljungdahl und Bohm, ibid. 10, 312, 1908.

[2]) Siehe auch: Wohlgemuth und Benzur, diese Zeitschr. 21, 469, 1909.

[3]) Bang, l. c., 1. Mitteilung.

suchen auch mit der Methode der getrockneten Organpulver untersucht.

Vor allem ergab sich dabei, daß kein Wert der diastatischen Kraft normaler Kaninchenlebern als normaler Vergleichswert angesehen werden kann, sondern auch dieser größeren Schwankungen unterworfen ist. Es wurden daher für derartige Vergleichsversuche stets gleich schwere Kaninchen untersucht unter vollkommen gleichen Bedingungen bloß mit Änderung des experimentellen Eingriffs.

Da nach den Versuchsergebnissen von Bang und seinen Mitarbeitern, sowie nach den Befunden Zeglas die Tötungsart selbst schon einen bedeutenden Einfluß auf die Fermentvermehrung ausüben soll, so wurde diese Frage in zahlreichen Versuchen studiert; alle die vielen Versuche führten aber gleichlautend zu den entgegengesetzten Ergebnissen, wie sie die genannten Autoren angeben. Nach deren Versuchen soll Nackenschlag eine Fermentvermehrung in der Leber zufolge haben gegenüber Tieren, die durch Verbluten getötet wurden. Von meinen zahlreichen diesbezüglichen Versuchen sei einer angeführt (Tabelle VIII und IX.)

Tabelle VIII.

Kaninchen 1950 g. Durch Nackenschlag getötet. 5%ige Lebersuspension + je 5 ccm 0,5%iger Stärkelösung 5 Stunden bei 40° geschüttelt.

Versuch Nr. 246.

Menge der Lebersuspension	
3	+
1,88	limes
1,17	–
0,73	–
0,46	–
0,29	–

Tabelle IX.

Kaninchen 1950 g. Durch Verbluten getötet. Sonst vollkommen analog wie in Tabelle VIII.

Versuch Nr. 248.

Menge der Lebersuspension	
3	+
1,88	+
1,17	+
0,73	+
0,46	limes
0,29	–

Die stärkere diastatische Kraft der Leber eines verbluteten Tieres gegenüber einem Nackenschlagtier möchte ich aber nicht als eine „Fermentvermehrung" ansehen, vielmehr glaube ich, daß durch das Verbluten Hemmungskörper gewissermaßen in vivo aus der Leber geschwemmt werden, die bei dem Nackenschlagtier nach dem Tode selbst durch gründliches Ausspülen nicht zu beseitigen sind.

Auffallend ist bei dieser Tötungsart meist auch die dunklere Färbung der ausgespülten Leber gegenüber der eines durch Verbluten getöteten Tieres.

Es wurden ferner im gleichen Sinne die Lebern von Kaninchen untersucht, an denen die Piqûre ausgeführt wurde. Da die Zuckerausscheidung nach der Piqûre mehrere Stunden anhält, dürfte auch die Fermentvermehrung nicht zu kurze Zeit bestehen bleiben. Die Tiere wurden daher erst getötet, sobald die erste Spur Zucker im Harn erschien (ca. 40 bis 50 Minuten nach der Piqûre), so daß stets die Gewähr gegeben war, daß die Piqûre auch tatsächlich mit Erfolg ausgeführt wurde. Eine konstante Fermentvermehrung, die auf Rechnung der Piqûre zu setzen wäre, war nicht zu konstatieren. Ebensowenig war dies bei der Adrenalinglucosurie der Fall. Auch hier wurden die Tiere beim ersten Auftreten des Zuckers im Harn getötet. Gleichzeitig mit den in Tabelle VIII und IX mitgeteilten Versuchen wurde auch die Leber eines gleich schweren Adrenalintieres untersucht, das durch Nackenschlag getötet wurde. Das Resultat war mit dem in Tabelle VIII angeführten vollkommen identisch. Eine vermehrte Fermentsekretion unter dem Einfluß von Adrenalin war also ebenfalls nicht zu konstatieren, ebensowenig ein direkter Einfluß von Adrenalinzusatz zur Leber bei ihrer Einwirkung auf Stärke und Glykogen. Diese Befunde decken sich übrigens auch mit denen Wohlgemuths[1]), der bei der Untersuchung der Diastase des Blutes bei der Adrenalinglucosurie weder eine Vermehrung noch eine Verminderung derselben beobachtete, desgleichen bei diesbezüglicher Untersuchung der Organe.[2])

Eine Erklärung der genannten experimentellen Glucosurien durch Fermentvermehrung scheint also nicht gegeben. Wir wissen ja übrigens aus obiger Tabelle VII auch, daß nicht die Fermentvermehrung allein genügen würde, um eine wesentliche Steigerung der diastatischen Kraft zu bedingen, daß vielmehr auch eine Glykogenvermehrung mit in Frage kommen könnte.

VII. Das Verhalten der Leberdiastase zu Glycerin.

Weiß und Luchsinger[3]) beobachteten bei Kaninchen nach Aufnahme von Glycerin eine Vermehrung des Glykogen-

[1]) Das Verhalten der Diastase im Blut. Diese Zeitschr. 21, 381, 1909.

[2]) Diese Zeitschr. 21, 460, 1909.

[3]) Maly, Jahresber. d. Tierchem. 8, 192, 5.

gehaltes der Leber, ebenso Ransom[1]). Die Autoren erklären dies damit, daß durch das Glycerin die Zuckerbildung in der Leber verhindert wird, was auch der negative Ausfall der Piqûre nach Glycerininjektion beweisen soll. Anderseits wird dem Glycerin direkt eine glykogenbildende Kraft zugeschrieben.

Bedenkt man, daß das Glycerin ein ausgezeichnetes Lösungsmittel für Fermente ist und als solches ja auch vielfach zur Extraktion von Organen und zur Fermentgewinnung verwendet wird, so wird man es naheliegend finden, für die oben mitgeteilten Beobachtungen auch das Glycerin zur Leberdiastase in Beziehung zu bringen, derart, daß durch die Glycerinaufnahme die Diastase aus der Leber ausgeschwemmt wird, so daß durch den Mangel an Ferment eine Hemmung der Zuckerbildung und eine Speicherung von Glykogen erfolgt.

Unterstützt wird diese Annahme durch eine Beobachtung Herrmanns[2]), der nach Glycerinaufnahme den Harn fermentreich fand.

Nach dem Schema der früher angeführten Versuche war es leicht, auch diese Frage zu erörtern.

Versuch Nr. 204. Kaninchen Nr. 39 erhält am 24., 25. und 27. XI. je 30 ccm 50%iges Glycerin per os. Hierauf wird es getötet und die Leber wie früher behandelt und ihre diastatische Kraft bestimmt.

Tabelle X.

5%ige Kaninchenlebersuspension Nr. 39 + je 5 ccm 0,5%iger Stärkelösung 5 Stunden bei 40° geschüttelt.

Menge der Suspension	
3	+ dunkelrot
1,88	limes
1,17	—
0,73	—
0,46	—
0,29	—

Der Versuch in Tabelle X zeigt, daß hier die Fermenttätigkeit sehr stark herabgesetzt ist. Daß aber tatsächlich eine Ausschwemmung der Diastase und ein Übertritt derselben in den Harn erfolgt, beweist folgender Versuch.

[1]) Journ. of Physiol. 8, 99. Jahresber. d. Tierchem. 18, 211.
[2]) Prager med. Wochenschr. 1892, Nr. 47 u. 48.

Versuch 214 und 215. Kaninchen 1850 g. Der 24 stündige Harn = 35 cm wird mit Alkohol gefällt, 24 Stunden stehen gelassen, dann abfiltriert, mit Alkohol und Äther gewaschen und in Wasser gelöst. Volumen des Filtrats = 70 ccm. Die diastatische Kraft des Filtrats zeigt Tabelle XI.

Tabelle XI.

Menge des Filtrats	
3	+ Erythrodextrin
1,88	+ do.
1,17	limes
0,73	—
0,46	—
0,29	—

Dasselbe Kaninchen erhielt hierauf per os 30 ccm 50%iges Glycerin. Der Harn der nächsten 24 Stunden = 160 ccm wurde ebenso behandelt wie der des ersten Tages und auch auf ein Volum von 70 ccm gebracht, dessen diastatische Kraft aus Tabelle XII ersichtlich ist.

Tabelle XII.

Menge des Filtrats		
3	+	vollständig farblos
1,88	+	
1,17	+	
0,73	+	
0,46	+	
0,29	+	

Es wurden ferner je 30 ccm vom Filtrat des ersten Tages und 30 ccm vom zweiten Tage mit Amyl. oryzae gleich lang im Thermostaten bei 40° digeriert, hierauf filtriert und polarisiert.

Das Filtrat des ersten Tages enthielt 0,42 g Zucker, das des zweiten Tages 0,77 g.

Diese angeführten Versuchsresultate bestätigen die Annahme, daß durch größere Glycerinmengen eine Ausschwemmung der Leberdiastase erfolgt, was wiederum eine Hemmung der Saccharifizierung und eine Glykogenspeicherung bedingt. Während die oben genannten Autoren fanden, daß nach Glycerininjektion die Piqûre nicht gelingt, konnte ich unter denselben Bedingungen eine Hemmung der Adrenalinglucosurie nicht erzwingen, was wohl beweist, daß hierbei neben der Fermentwirkung noch andere Faktoren mit in Frage kommen.

Zusammenfassung.

Quantitative Fermentstudien sind weder mit frischem Organbrei noch mit Organpreßsäften ausführbar, wohl aber bei Benützung extrahierter Organpulver, die nach dem Verfahren von Wiechowski dargestellt sind.

Die Methode der Diastasebestimmung nach Wohlgemuth ist für Fermentlösungen, die den Pohlschen Organeiweißkörper enthalten, nur dann verwendbar, wenn während der Digestion Ferment und Substrat durch fortwährendes Schütteln in Kontakt gehalten werden, da sonst das schon bei Zimmertemperatur koagulierende Organeiweiß sowohl Stärke als auch Ferment mitreißt.

Auch bei Versuchen mit Zusatz von Glykogen zu frischem Organbrei ist dieser Fehler in Betracht zu ziehen.

Ein Einfluß der Diastasekonzentration auf die Wirkung besteht innerhalb gewisser Grenzen nicht.

Die Adsorption von Ferment durch das auskoagulierende Organeiweiß ist auch die Ursache für die irrige Annahme, daß Organpreßsäfte in den ersten 24 Stunden nach dem Tode an Wirksamkeit verlieren. Die Wirksamkeit der Leberdiastase bleibt hingegen ebenso wie die Diastase des Speichels und des Blutes in ihrer Wirkung ungeschwächt, wenn das Organplasma, bzw. der Organpreßsaft derart aufbewahrt wird, daß ein Auskoagulieren des Organeiweißes verhindert wird.

Die Leberdiastase geht quantitativ ins Organplasma über.

Durch Ausfällen der Diastase mit Alkohol werden Hemmungskörper beseitigt, wodurch das neuerlich gelöste Ferment an Wirksamkeit gewinnt.

Der Umfang der Zersetzung von Glykogen oder Stärke durch Diastase ist bei gleicher Einwirkungszeit nicht nur von der Fermentmenge, sondern auch von der verfügbaren Menge des Substrats abhängig.

Die Diastase wird bei ihrer Wirkung nicht verbraucht, sondern ist imstande, nach Ablauf ihrer Wirkung auf Zusatz von neuer Stärkemenge die gleiche Arbeit in der nachfolgenden gleichen Zeit nochmals zu leisten. Auf Grund der Wirkungsart der Diastase ist der Vergleich derselben Organe verschiedener Individuen hinsichtlich der diastatischen Kraft derselben nur dann möglich, wenn sowohl Ferment- als auch Stärke- bzw. Glykogenmenge ceteris paribus gleich gewählt werden.

Die Werte der diastatischen Kraft normaler Kaninchenlebern sind ziemlich schwankend.

Von zahlreichen gleich schweren Kaninchen zeigen die Lebern der verbluteten Tiere stets eine höhere diastatische

Kraft als die der durch Nackenschlag getöteten. Die Ursache hierfür liegt wahrscheinlich darin, daß durch das Verbluten Hemmungskörper der Fermentwirkung aus dem noch lebenden Organismus entfernt werden, die nach dem Tode durch Nackenschlag durch Ausspülen der Leber nicht mehr zu beseitigen sind.

Weder durch die Piqûre noch durch die Adrenalininjektionen ist eine sichtliche, konstant meßbare Vermehrung der diastatischen Kraft zu erzielen.

Durch Glycerin kann eine Ausschwemmung der Leberdiastase und ein Übergang derselben in den Harn erzielt werden. Dies erklärt die Hemmung der Piqûre und der Saccharifizierung in der Leber nach Glycerinaufnahme, sowie die dadurch bedingte Speicherung des Leberglykogens.

Über Fermentwirkung und deren Beeinflussung durch Neutralsalze.

Von

Emil Starkenstein.

(Aus dem pharmakologischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

Ausgeführt mit Unterstützung der „Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen".

(Eingegangen am 20. Januar 1910.)

Die Fermentstudien der letzten Jahre haben mit aller Bestimmtheit ergeben, daß den Neutralsalzen eine bedeutende Rolle bei der Fermentwirkung zukommt. In welcher Richtung sich dieser Einfluß äußert, ist jedoch noch nicht einheitlich entschieden. Von einzelnen Autoren wird den Salzen eine fördernde Wirkung der Fermente zugeschrieben, von anderen eine hemmende. Die diesbezüglichen widersprechenden Resultate[1]) sind wohl auch zum großen Teil der angewandten Methodik zuzuschreiben. Wollen wir den Einfluß eines Salzes auf die Fermentwirkung studieren, so ist erforderlich, daß wir das betreffende Ferment in salzfreier Lösung vor uns haben und nun bei Steigerung des Salzgehaltes die Wirkungsänderung beobachten; denn es kann selbst der geringe Salzgehalt der Ausgangslösung bereits die Grenze der zulässigen Salzmenge darstellen, weiterer Salzzusatz wird dann naturgemäß hemmen, ohne daß wir deshalb dem betreffenden Salze an und für sich eine absolute hemmende Wirkung auf das betreffende Ferment zuschreiben dürfen.

Am eingehendsten und mit den übereinstimmendsten Resultaten wurde die Beeinflussung der Diastase durch Neutral-

[1]) Siehe b. Samuely, Tierische Fermente. Oppenheimers Handb. d. Biochem. 1, 530, 1909.

salze studiert. Der Vorteil für diese Untersuchungen liegt darin, daß dieses Ferment in neutraler Lösung wirkt, somit der Dialyse keine Schwierigkeiten entgegenstehen.

Die ersten diesbezüglichen Arbeiten [Kübel[1]), Grützner[2])] haben den bereits erwähnten Fehler, daß der Einfluß des Salzes auf das nicht dialysierte Ferment studiert wurde, doch zeigte auch hier Salzzusatz eine Förderung der Fermentwirkung. Von späteren Arbeiten seien die von Cole[3]), Bierry, Giaja und Henri[4]), Preti[5]) und Wohlgemuth[6]) erwähnt. Die genannten Autoren kamen zu dem Schluß, daß sowohl Speichel-, Blutserum- und Pankreasdiastase als auch Diastase des Harnes durch Dialyse inaktiviert, auf Zusatz von Kochsalz jedoch wieder reaktiviert werden kann.

Ich versuchte nun festzustellen, wie sich die Leberdiastase nach vollständiger Dialyse verhält.

Als Dialysatoren wurden die sog. Fischblasenkondome verwendet, die angeblich aus dem Blinddarm von Schafen hergestellt werden. Die Dialyse erfolgte in der in unserem Laboratorium als sehr zweckmäßig erprobten Anordnung.[7])

Der Gang der Fermentprüfung war derselbe, wie er in der vorhergehenden Arbeit beschrieben wurde.

Als Resultat zahlreicher derartiger Versuche ergab sich, daß es durch die Dialyse von Leberpulvern oder Organplasmen gelingt, die darin enthaltene Diastase vollständig zu inaktivieren, d. h. in derselben Zeit, in der ein normales Organplasma eine bestimmte diastatische Wirkung entfaltet, bleibt das gleiche, jedoch dialysierte völlig unwirksam; durch Zusatz von Kochsalz gelingt es, die alte Wirkung wiederherzustellen, ja bis zu einem gewissen Grade zu fördern. Das Kochsalz stellt also auch für die Leberdiastase einen Aktivator dar.

Aktivatoren für Fermente sind sowohl für die natürlich inaktiven bekannt (z. B. Enterokinase für das Trypsin) als auch für die künstlich inaktivierten (Kofermente). Wohlgemuth[8]) hat gezeigt, daß die Förderung der Diastase durch neutralisierten Magensaft bloß durch das in demselben enthaltene NaCl bedingt ist.

---

[1]) Kübel, Pflügers Archiv 76, 276, 1899.
[2]) Grützner, ebenda 91, 195, 1902.
[3]) Cole, Journ. of Physiol. 1904.
[4]) Bierry, Giaja und Henri, Compt. rend. Soc. Biol. 60, 479, 1906.
[5]) Preti, diese Zeitschr. 4, 1, 1907.
[6]) Wohlgemuth, ebenda 9, 16, 1908.
[7]) Wiechowski, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 1907.
[8]) l. c.

In mehreren Fällen erwies sich aufgekochter Hefesaft, Leberpreßsaft usw. als Fermentaktivator. Es ist noch nicht erwiesen, ob nicht auch hier Salze die Rolle dieser „thermostabilen Kofermente" darstellen. Wie weit die Gegenwart von Salzen überhaupt für Fermentwirkungen notwendig ist, läßt sich heute noch nicht entscheiden.

Wir haben die Notwendigkeit der Salzgegenwart für die Diastase gesehen, andrerseits fanden Wiechowski und Wiener[1]) bei Untersuchung des harnsäurezerstörenden Ferments, daß dieses bei der Dialyse gegen 0,05% Natr. carb. nichts an Wirksamkeit einbüßt, bisweilen sogar gefördert wird. Die Gegenwart so geringer Salzkonzentrationen, wie sie hier verwendet wurden, genügt aber noch nicht, um z. B. Diastase zu aktivieren.

Dieser Unterschied in der Beeinflussung eines hydrolytischen Fermentes gegenüber einem oxydativen durch Neutralsalze legte uns die Frage nahe, ob dies nicht allgemein für diese beiden Fermentarten gelte.

Bezüglich anderer hydrolytischer Fermente liegen derartige Angaben u. a. von Magnus[2]) vor, der fand, daß ein esterspaltendes Ferment der Leber durch Dialyse inaktiviert werde, durch Zusatz von gekochtem Lebersaft aber wieder die alte Wirkung erlange. Als Aktivatoren wurden in diesem Falle die gallensauren Salze gefunden [Loevenhart[3])].

Von anderen hydrolytischen Fermenten untersuchte ich die Lipase und das Pepsin hinsichtlich ihrer Wirksamkeit nach erfolgter Dialyse.

Die Lipase wurde derart geprüft, daß gleiche Mengen von nativem und dialysiertem Organplasma mit gleichen Mengen Ricinusöl bei 40° geschüttelt wurden; die Emulsion wurde hierauf mit Alkohol gefällt, filtriert und mit $^{n}/_{10}$-NaOH titriert.

Es zeigte sich, daß durch die Dialyse die Wirkung der Lipase stark herabgesetzt wurde.

Das gleiche war beim Pepsin der Fall. Allerdings gelang es in diesen Fällen nicht, durch Kochsalz die Wirkung wiederherzustellen. Die Aktivatoren sind jedenfalls verschieden, da z. B. die Aktivierung von esterspaltenden Fermenten in der Leber durch gallensaure Salze nicht für alle Ester möglich ist, was wohl auch für Unterschiede der einzelnen Fermente derselben Art spricht.

Das Aktivierende der Diastase durch NaCl ist nach Wohlgemuth das Cl-Ion. Eine Förderung der Diastasewirkung wurde jedoch auch

---

[1]) Wiechowski und Wiener, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 1907.

[2]) R. Magnus, Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 169, 1904.

[3]) Loevenhart, Journ. of Biolog. Chem. 2, 1907.

durch andere Salze beobachtet. Hugh, Neilson und Terry[1]) fanden eine solche durch Natr. citric. bedingt.

Für die Beurteilung des fördernden Einflusses einer Fermentwirkung durch Neutralsalze war es wichtig zu erfahren, ob die Salzmenge in irgend einem quantitativen Verhältnis zur Fermentmenge stehe.

Wohlgemuth hat wohl die unterste Grenze jener NaCl-Menge festgestellt, die eben noch einen fördernden Einfluß auf die Diastase zeigt, doch fand die im Ausgangsmaterial bereits vorhandene Salzmenge keine Berücksichtigung.

Es wurde deshalb zum Studium der genannten Frage zuerst in der oben angegebenen Methodik von einem dialysierten Leberplasma die Diastasemenge bei gleichem Salzgehalt variiert, dann diejenige Fermentmenge, die eben noch wirksam war, mit steigendem Salzgehalt geprüft.

Aus Tabelle I geht hervor, daß 3 ccm der Fermentlösung erforderlich waren, um 5 ccm einer 0,5 %igen Stärkelösung innerhalb 5 Stunden zu hydrolysieren.

Tabelle II zeigt, daß aber eine bestimmte Salzmenge nötig ist, um diese Wirkung zu erzielen, daß anderseits durch ein Überschreiten dieser Menge die Wirkung des Fermentes herabgesetzt wird.

Einen ähnlichen Versuch zeigt Tabelle III. Es wurden 5 Reihen zu 6 Röhrchen aufgestellt, und in jeder Reihe der NaCl-Gehalt variiert, so daß stets die gleiche Fermentmenge bei einem Kochsalzgehalt von 1, 2, 3, 5 und 10 % geprüft wurde. In die Tabelle sind ferner auch die absoluten Zahlen der NaCl-Menge aufgenommen, die in einem jeden Röhrchen enthalten waren. Es geht aus diesem Versuch wiederum hervor, daß von 1 bis 3 % eine Steigerung, von hier an eine Hemmung der Diastasewirkung durch NaCl erfolgt, daß ferner dieselbe Kochsalzmenge, die für eine bestimmte Fermentmenge noch nicht zur Aktivierung genügt, eine geringere Menge dieses Ferments aktivieren, eine noch geringere bereits hemmen kann. Es läßt sich daraus wohl der Schluß ableiten, daß das Fermentmolekül zu seiner Aktivierung eine bestimmte Salzmenge braucht, um das Optimum seiner Wirkung zu erreichen, daß also nicht die relative, sondern die absolute Menge des aktivierenden Neutralsalzes von Bedeutung ist.

J. Loeb gibt für die Bedeutung der Salzsäure für das Pepsin, bzw. des Alkalis für das Trypsin die Erklärung, daß wir es in dem ersten Fall mit einer schwachen Base, im zweiten mit einer schwachen Säure zu tun haben, die nun durch die Säure, bzw. Base neutralisiert werden, wodurch im Gegensatz zu den Salzen starker Säuren und Basen eine bessere Dissoziation erzielt wird.

[1]) Hugh, Neilson und Terry, Amer. Journ. of Physiol. **14**, 105. Maly, J. T. **35**, 528.

Es wäre nicht undenkbar, daß den Salzen im Diastasemolekül eine ähnliche Rolle zukommt; welcher Art dieselbe ist, können wir heute bei vollständiger Unkenntnis der Fermentindividualität natürlich nicht sagen. Es scheint aber die Bedeutung der Salze für die Diastase die gleiche zu sein wie die der Salzsäure für das Pepsin.

Dafür sprechen auch die Resultate der Untersuchungen von J. Schütz[1]), der fand, daß für die Intensität der Pepsinverdauung in erster Linie nicht die relative, sondern die absolute Menge der Salzsäure maßgebend ist.

Als Ergebnis obiger Untersuchungen geht hervor, daß die Neutralsalze als Aktivatoren in erster Linie nur für die hydrolytischen Fermente in Frage kommen.

Tabelle I.

Kaninchenleberplasma 5%. Dialysiert. 5 Stunden bei 40° geschüttelt.

Menge des Plasmas	0,5%ige Stärkelösung ccm	Destill. Wasser	Eingewog. NaCl-Menge g	Gesamt-Volum	
3	5	2	0,3	10	+
1,88	5	3,12	0,3	10	limes
1,17	5	3,83	0,3	10	—
0,73	5	4,27	0,3	10	—
0,46	5	4,54	0,3	10	—
0,29	5	4,71	0,3	10	—

Tabelle II.

Dasselbe Plasma wie in Tabelle I, unter gleichen Bedingungen, aber mit Änderungen des Salzgehaltes geprüft.

Menge des Plasmas	0,5%ige Stärkelösung ccm	Destill. Wasser	Eingewog. NaCl-Menge g	Gesamt-Volum	
3	5	2	0	10	—
3	5	2	0,05	10	—
3	5	2	0,1	10	limes
3	5	2	0,2	10	+
3	5	2	0,3	10	+
3	5	2	0,4	10	+
3	5	2	0,5	10	limes
3	5	2	0,6	10	—
3	5	2	0,8	10	—
3	5	2	1,0	10	—

[1]) J. Schütz, diese Zeitschr. 22, 1909.

Tabelle III.

Hundeleberplasma dialysiert. 5 Stunden bei 40° geschüttelt. Die Zahlen bedeuten die absolute NaCl-Menge in den einzelnen Röhrchen.

Menge des Plasmas	NaCl 1%	NaCl 2%	NaCl 3%	NaCl 5%	NaCl 10%
3	+ 0,03	+ 0,06	+ 0,09	+ 0,15	+ 0,3
1,88	+ 0,018	+ 0,037	+ 0,05	+ 0,094	+ 0,188
1,17	limes 0,011	+ 0,023	+ 0,03	limes 0,058	limes 0,117
0,73	— 0,007	limes 0,014	+ 0,021	— 0,036	— 0,073
0,46	— 0,004	— 0,009	+ 0,013	— 0,023	— 0,046
0,29	—	—	limes 0,008	—	—
0,18	—	—	—	—	—

Ich berichte nunmehr über einen weiteren Unterschied zwischen den hydrolytischen und den oxydativen Fermenten:

In der vorhergehenden Mitteilung konnte ich zeigen, daß die Diastase quantitativ ins Plasma übergeht, und habe dort bereits auf den diesbezüglichen Unterschied dieses Fermentes gegenüber dem urikolytischen hingewiesen. Auch hier haben wir die Vertreter zweier Fermentqualitäten vor uns und ich suchte daher auch darüber Aufschluß zu erlangen, ob sich andere Fermente derselben Reihe in gleicher Weise verhielten.

Bereits aus den zahlreichen Angaben in der Literatur geht hervor, daß sich Lipasen, Esterasen, Invertase, Pepsin, Trypsin, amidspaltende Fermente usw. in den Organpreßsäften, im Blut sowie einzelne von ihnen als echte Sekrete vorfinden. Anderseits fanden Wiechowski und Wiener[1]), Schittenhelm[2]) u. a., daß das urikolytische Ferment nicht in die Preßsäfte geht, sondern erst nach Aufschluß der Zellen durch Alkali aus den Organen extrahiert werden kann. Desgleichen wurde die Salicylase von Jaquet[3]) dem Leberbrei durch Alkali entzogen, und auch Pohl[4]) benützte zum Studium der Aldehydase den ganzen Leberbrei.

Es scheinen also im allgemeinen die Oxydasen an die Zelle gebunden zu sein und erst nach Schädigung der Zellwand extrahierbar zu

[1]) Wiechowski und Wiener, l. c.

[2]) Schittenhelm, Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 161, 1905.

[3]) Jaquet, Arch. f. experim. Pathol. u. Ther. 29, 386.

[4]) Pohl, Arch. f. experim. Path. u. Pharmakol., 38, 65.

werden, während die hydrolytischen Fermente gelöst in den Zellen vorhanden sind, infolgedessen leicht ins Plasma übertreten.

Was nun aber die Frage betrifft, in welcher Weise Fermente auf ihre Substrate einwirken, so beruhen unsere diesbezüglichen Vorstellungen vorwiegend auf Hypothesen. Feststehend ist wohl die Spezifität der Fermentwirkung und die Untersuchungen Emil Fischers und Abderhaldens haben ergeben, daß dieselbe ein chemisches Problem ist und zum Teil durch sterische Konfiguration von Ferment und Substrat bedingt ist.

Es war außerordentlich verlockend, wie Oppenheimer[1]) ausführt, die Spezifität der Fermentwirkung mit der Spezifität der Antitoxinwirkung zu vergleichen und ebenso durch die Ehrlichsche Seitenkettentheorie Erklärungsversuche zu geben. Der genannte Autor versuchte auch als erster das Tertium comparationes der beiden Wirkungsweisen nach Möglichkeit zu erläutern.

So sehr nun die Seitenkettentheorie durch Zusammenfassung der bekannten Erscheinungskomplexe der Serologie zur Erklärung derselben wertvoll ist, so bedeutet ihre Übertragung auf die Fermentwirkungen doch nur einen Erklärungsversuch unbekannter Erscheinungen wiederum durch eine Theorie und dadurch werden gewisse, noch nicht geklärte Vorstellungen aus einem Gebiete auf das andere übertragen.

Heute besteht die Anschauung, daß die spezifischen Angriffspunkte zwischen Ferment und Substrat spezifisch bindende Gruppen darstellen.[2]) Oppenheimer nahm nun an, daß diese Bindung durch spezifische haptophore Gruppen erfolge, er hebt aber auch gleichzeitig die Schwierigkeiten der Durchführung einer solchen Theorie hervor, da wir auch in chemisch gut charakterisierten Körpern, wie es z. B. der Rohrzucker, das Amygdalin, die Harnsäure ist, solche haptophoren Gruppen annehmen müßten.

Zur Verwertung einer solchen Anschauung werden u. a. Versuchsergebnisse angeführt, die eine wirkliche Bindung des Ferments an sein Substrat ergeben haben sollen. Hedin[3]) sucht die Erscheinung der Fermentadsorption durch die Spezifität der Fermentwirkung zu erklären. Er schließt, daß die Enzyme von denjenigen Körpern adsorbiert werden, auf die sie einwirken können. Michaelis und Ehrenreich[4]) führen gegen diese Anschauung an, daß Fermente auch von anderen Adsorbentien adsorbiert werden können, auf die sie nicht einwirken.

---

[1]) Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig.

[2]) Siehe Samuely, l. c.

[3]) S. Hedin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 497, 1907.

[4]) Michaelis und Ehrenreich, diese Zeitschr. 10, 283, 1908.

Diese Tatsache allein wäre allerdings kein Gegenbeweis für die Behauptung Hedins; denn es adsorbiert z. B. der Typhusbacillus in spezifischer Weise nur Typhusimmunkörper; diese aber können, wie alle anderen Immunkörper, von einer großen Zahl anderer Körper adsorbiert werden. Bei meinen Versuchen überzeugte ich mich auch, daß unlösliche Reisstärke die Diastase quantitativ adsorbiert, nicht aber das urikolytische Ferment.

Obwohl dies nun für eine sogenannte spezifische Adsorption sprechen würde, geht aus den folgenden Versuchen hervor, daß überhaupt von einer derartigen innigen Bindung zwischen Ferment und Substrat nicht gesprochen werden kann, wie es bisher angenommen wurde.

Henri[1]) stellt den Satz auf, daß jeder wirklich spaltenden Fermentwirkung eine erste Phase vorangeht, in der eine labile chemische Verbindung von Ferment und Substrat an den Orten ihrer spezifisch wirksamen Atomgruppierungen entsteht.

Das Studium der Art dieser Bindung war im allgemeinen dadurch erschwert, daß man ein Ferment nicht so weit inaktiviert hatte, daß es nach der erfolgten Bindung nicht auch gleich zur Spaltung des Substrats gekommen wäre. Eine Trennung dieser Phasen ist nun aber bei der Diastase möglich.

Es liegt ferner ein Vorteil für derartige Studien bei dem genannten Ferment darin, daß wir das Substrat, die Stärke, sowohl in gelöster als auch in unlöslicher Form zur Verfügung haben.

Erst suchte ich festzustellen, in welchem Maße Reisstärke die Diastase adsorbiert.

Es wurde mit einer Aufschwemmung von Amylum oryzae eine durch Dialyse inaktivierte Diastaselösung (Organplasma) geschüttelt, dann zentrifugiert und die Stärke auf der Zentrifuge 4 mal mit dest. Wasser gewaschen. Der Rückstand wurde dann in dest. Wasser suspendiert, in zwei Teile geteilt und der eine mit NaCl zu 1% versetzt. Desgleichen wurde von einer frischen Reisstärkesuspension eine Probe auf den gleichen Salzgehalt gebracht, eine in dest. Wasser belassen. Alle 4 Proben blieben dann 24 Stunden bei 40° im Thermostat. Nachher wurde filtriert und die Filtrate auf ihre Reduktionskraft geprüft. Es zeigte nur die Probe, die mit der Fermentlösung geschüttelt worden war und Kochsalz erhalten hatte, starke Reduktion; die Kontrollprobe ohne NaCl reduzierte kaum merklich, die beiden andern überhaupt nicht.

Die Reisstärke hatte also das diastatische Ferment adsorbiert und zwar derart, daß es nicht wegzuwaschen war.

Daraus ergab sich weiter folgende Überlegung: Wenn diese Erscheinung als eine spezifische chemische Bindung zwischen Substrat und Ferment gedeutet werden soll, so müßte diese Bindung auch bei gelöster Stärke erfolgen.

---

[1]) Henri zit. nach Samuely, l. c.

Versetzen wir eine inaktivierte Diastaselösung mit gelöster Stärke, so kann wohl die Bindung, nicht aber die Hydrolyse erfolgen. Wäre die Bindung aber so innig wie bei der unlöslichen Stärke, so ließe sich eine Trennung von Ferment und Substrat nicht mehr durchführen.

Es wurde zur Erschließung dieser Frage eine inaktivierte Diastaselösung mit löslicher Stärke versetzt und bei 40° geschüttelt. Hierauf wurde mit unlöslicher Reisstärke ausgeschüttelt, zentrifugiert und das Filtrat zu 1% mit NaCl versetzt, desgleichen der Rückstand in zwei Teile geteilt und der eine auf den gleichen Kochsalzgehalt gebracht wie das Filtrat. Die 3 Proben wurden dann gleich lange bei 40° geschüttelt.

Im Filtrat blieb alle Stärke unangegriffen, desgleichen war das Filtrat der Stärkeaufschwemmung ohne Kochsalzzusatz hinsichtlich Reduktion negativ, wohl aber wurde in der Kontrollprobe genügend Zucker gebildet.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß eine chemische Bindung von Ferment und Substrat nicht erfolgt. Die Adsorption des Ferments durch die corpusculäre Stärke ist eben ein rein physikalisches Phänomen und sicher unabhängig von der Fermentwirkung. Bei einer chemischen Verbindung zweier Körper enthält das Reaktionsprodukt die beiden reagierenden Körper oder Teile derselben. Homologes ist aber von den Fermentreaktionen nicht bekannt. Hier wird das Substrat zerlegt, das Ferment bleibt aber, wie wir früher gesehen haben,[1]) unverbraucht übrig und kann die gleiche Arbeit wiederholt leisten.

Einen ähnlichen Vorgang beobachtete E. Weil[2]) beim Studium der Komplementbindung durch gelöste Bakteriensubstanz und Immunkörper und kommt auch dort zu dem Schluß, daß beide Substanzen nebeneinander vorhanden sind, ohne eine Verbindung miteinander einzugehen; er weist dort auf gewisse Analogien zwischen diesen Vorgängen und der Fermentwirkung hin, die in den oben mitgeteilten Versuchen ihre Stütze finden.

---

[1]) Siehe die vorhergehende Arbeit.

[2]) E. Weil, diese Zeitschr. 24, 220, 1910.

Über die Bedeutung der Antigen-Antikörperverankerung für die spezifische Komplementbindung.

Von

Edmund Weil.

(Aus dem hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 20. Januar 1910.)

Die Frage, ob die Antigen-Antikörperverankerung für die spezifische Komplementbindung Voraussetzung ist, wird von den meisten Autoren bejaht werden; — wir zitieren hier Sachs und Altmann[1]):

„Diese grundlegende Tatsache, daß nämlich die bei der Immunisierung entstehenden Antikörper, die Amboceptoren, von den entsprechenden Antigenen verankert werden, und die Folge dieser Verankerung in einem starken Komplementbindungsvermögen des resultierenden Komplexes besteht, bildet die Basis des Verständnisses der durch das Zusammenwirken von Antigenen und Antikörpern im allgemeinen resultierenden Komplementbindungsphänomene." Weiter sagen Morgenroth und Halberstädter[2]): „Immer nämlich zeigt sich, daß zwischen dem Antigen und dem für dieses spezifischen Antikörper eine lebhafte Affinität besteht und daß in dem Momente, wo diese Affinität zu einer Bindung zwischen Antigen und Antikörpern geführt hat, hinzugefügtes Komplement gebunden wird."

Wenn wir auf Grund von Versuchen, die wir im folgenden mitteilen, die absolute Richtigkeit der oben erwähnten Vorstellungen nicht anerkennen, so setzen wir uns dadurch in Gegensatz zu fast allgemein akzeptierten Anschauungen. Denn auch die Differenz zwischen Ehrlich und Bordet bezieht sich nur auf die Art der Immunkörper resp. Komplementwirkung, beide nehmen jedoch an, daß das Antigen von dem Antikörper verankert wird. Es liegt uns ferne, die Tatsache zu leugnen, daß

---

1) Handb. von Kolle und Wassermann.

2) Deutsche Klinik 12, 48.

Zellen mit den spezifischen Antikörpern eine Bindung eingehen, was sich ja in einwandfreier Weise demonstrieren läßt; daß aber diese Verankerung für das spezifische Verschwinden des Komplementes unbedingt nötig ist, müssen wir, wie wir im nachfolgenden darzulegen versuchen werden, in Abrede stellen.

Unsere jetzigen Untersuchungen gingen von Experimenten aus, die bereits vor längerer Zeit mitgeteilt wurden und die das Resultat ergeben haben, daß für die wasserlöslichen Bakterienbestandteile, die als freie Receptoren bezeichnet werden, diese Benennung unzutreffend ist, da dieselben mit Immunkörpern gar keine Bindung eingehen. Die Verhinderung der Agglutination durch Bakterienextrakte kommt durch Zerstörung der fällenden Gruppe — ob in spezifischer Weise, wurde nicht festgestellt —, die Behinderung der Bakteriolyse durch Komplementbindung zustande, wobei aber die bakteriolytischen Amboceptoren weder in ihrer cyto-, noch in ihrer komplementophylen Gruppe vom Bakterienextrakt beeinflußt werden (Bail und Kikuchi, Weil und Axamit, Tojosumi). Die Komplementbindung war unserer Vorstellung nach in einer Veränderung des Extraktes durch die Präcipitine begründet, die jedoch, wie wir ausdrücklich hervorhoben, nicht in einer sichtbaren Präcipitation zutage zu treten braucht. Demnach befinden sich Sachs und Meier in einem Irrtum, wenn sie uns die Ansicht zuschreiben, daß wir für die Komplementbindung die sichtbar auftretende Präcipitation verantwortlich machen.

Da wir durch diese Versuche den Beweis erbracht zu haben glaubten, daß in den gelösten Bakterienbestandteilen Immunkörper bindende Gruppen fehlten und dadurch einer grundlegenden Anschauung, die in dem Begriffe der freien Receptoren ihren Ausdruck gefunden hatte, widersprachen, so glaubten wir, daß diese Feststellungen wenigstens für die beteiligten Autoren nicht ohne Interesse sein dürften. Darin jedoch haben wir uns getäuscht, denn unsere Experimente wurden bis heute einer Nachprüfung nicht unterzogen und finden in den zusammenfassenden Übersichten über die Seitenkettentheorie kaum Erwähnung.

Dessen ungeachtet schien uns die Untersuchung, ob die komplementbildenden Antikörper von Bakterienextrakten verankert werden, nicht unwichtig zu sein, da ja die positive

Annahme, wie aus dem obigen Zitate von Sachs und Altmann hervorgeht, „die Basis des Verständnisses“ der Komplementbindung darstellt. Die Frage ließ sich aus dem Grund leicht durchführen, weil wir bei der Komplementbildung über zwei qualitativ gleiche Antigene, die Bakterienemulsion (Bordet und Gengou) und die Bakterienextrakte (Wassermann und Bruck) verfügen. Trifft die allgemein anerkannte Voraussetzung, daß die Bakterienextrakte das Substrat darstellen, das durch Verankerung mit den komplementbindenden Immunkörpern die Komplementbindung bedingt, zu, so dürfen die zum Extrakt-Immunserumgemisch nachträglich hinzugefügten Bakterien die komplementbindenden Antikörper entweder gar nicht oder nur in geringer Menge vorfinden, während nach Entfernung der Bakterien das Extrakt-Immunserumgemisch unverändert komplementbindend wirken muß. In beifolgender Tabelle teilen wir zwei Versuche in der eben geschilderten Anordnung mit. Das hierzu verwendete Immunserum wurde durch Erhitzen auf 72° seiner präcipitierenden Fähigkeit beraubt, weil einerseits durch Präcipitation der Extrakt unwirksam wird, anderseits beim Zentrifugieren außer dem Präcipitat die Immunkörper mit in den Bodensatz gehen.[1]) Diese beiden Umstände würden selbstverständlich die Versuche illusorisch machen.

Die Versuche in Tab. I zeigen, daß das komplementbindende Extrakt-Immunserumgemisch durch hinzugefügte Bakterien unwirksam wird, während die zur Behandlung verwendeten Bakterien die Fähigkeit der Komplementfixation erlangen. Wenn alle Versuchsbedingungen einwandfrei sind, so würde dies besagen, daß im Extrakt-Immunserumgemisch die Immunkörper frei sind und von den Bakterien verankert werden. Bevor wir jedoch diesen Schluß, der, wie erwähnt, zu den jetzt geltenden Anschauungen in vollem Widerspruch steht, ziehen, wollen wir allen Einwänden, die dagegen ins Feld geführt werden könnten, zu begegnen suchen.

Zunächst muß in Erwägung gezogen werden, daß die Erhitzung auf 72° nicht genügen könnte, um die präcipitierende Fähigkeit des Serums zu zerstören, so daß die beiden vorher erwähnten Umstände eintreten, indem mit dem entstehenden

[1]) In welcher Weise dies erfolgt, wird im Verlaufe dieser Mitteilung auseinandergesetzt werden.

Tabelle I.

I.		Extrakt	Immunserum	NaCl		Nach 2 Std. Immunserum I 1 Std. 72°	Nach 2 Std. Immunserum A 1 Std. 70°
Extrakt-Immunserum-verdünnungen.		1. 0,1	0,05	0,85	In sämtliche Röhrchen 0,1 ccm Komplement und nach 1stündigem Aufenthalt bei 37° je 1 ccm 5% mit 0,0015, d. i. der 3fach lösenden Dosis sensibilisierter Hammelblutkörperch.	0	0
		2. 0,1	0,03	0,85		0	0
		3. 0,1	0,01	0,9		wenig	0
		4. 0,1	0,005	0,9		fast komplett	0
		5. 0,1	—	0,9		komplett	komplett
		6. —	0,05	0,85		"	"
II.		Extrakt	Ursprüngliche Immunserumdosis				
Zu denselben Verdünnungen wird nach 1 Std. je 1 ccm Vibrionen-Emulsion (1 Agarkultur in 10 ccm NaCl) hinzugesetzt. Nach einer weiteren Stunde wird zentrifugiert und Abguß u. Bodensatz getrennt. Es genügt ein 30 Min. langes Zentrifugieren, (3000 Umdrehung.), um einen vollkommen klaren Abguß zu erlangen.	Abguß, bestehend aus:	1. 0,1	0,05			fast kompl. (Nach 25 Min.)	0
		2. 0,1	0,03			komplett (Nach 25 Min.)	komplett
		3. 0,1	0,01			" (Nach 25 Min.)	"
		4. 0,1	0,005			" (Nach 25 Min.)	"
		5. 0,1	—			" (Nach 25 Min.)	"
	Bodensatz, besteh. aus:	Choleravibrionen von 1.		in 1 ccm NaCl aufgeschw.		0	0
		" " 2.				0	0
		" " 3.				mäßig	0
		" " 4.				stark	0
		" " 5.				kompl. 35 Min.	komplett
III.		NaCl	Ursprüngliche Immunserumdosis				
Dieselben Immunserumverdünnungen ohne Extrakt in NaCl. Nach 1 Std. Vibrionen usw., sonst genau wie II.	Abguß, bestehend aus:	1. 0,1	0,05			komplett (25 Minuten.)	komplett
		2. 0,1	0,03			" (25 Minuten.)	"
		3. 0,1	0,01			" (25 Minuten.)	"
		4. 0,1	0,005			" (25 Minuten.)	"
		5. 0,1	—			" (25 Minuten.)	"
	Bodensatz, besteh. aus:	Choleravibrionen von 1.		in 1 ccm NaCl aufgeschw.		0	0
		" " 2.				0	0
		" " 3.				mäßig	0
		" " 4.				stark	0
		" " 5.				kompl. 35 Min.	komplett

und abzentrifugierten Präcipitat sowohl die wirksamen Extraktbestandteile als auch die Immunkörper ausgefällt werden, wodurch dann der Schluß, daß eine Bindung zwischen Extraktbestandteilen und Immunkörpern nicht zustande gekommen ist, irrig wäre. Wir konnten uns in der Tat überzeugen, daß bei einstündiger Erhitzung unserer Immunsera auf 72°[1]) öfters nach Extraktzusatz deutliche Trübungen entstanden, die nur auf spezi-

[1]) Die Erhitzung wurde in der Kochsalzverdünnung 1 : 5 vorgenommen.

fische Präcipitation zurückgeführt werden konnten. Wir mußten uns deshalb durch eine entsprechende Kontrolle überzeugen, welche Rolle diesem Umstande beizumessen ist. Diese Kontrolle bestand darin, daß wir zum Extrakt-Immunserumgemisch Typhusbacillen hinzusetzten, um zu beobachten, ob nach dem Zentrifugieren irgendwelche Veränderungen im Sinne einer Präcipitation vor sich gehen; gleichzeitig hatten wir hierdurch auch die Spezifitätskontrolle, da sämtliche Versuche mit Cholera ausgeführt wurden.

Die sonstige Versuchstechnik war folgende: Den Choleraextrakt stellten wir so dar, daß der Inhalt einer Kolle-Schale, in 15 ccm NaCl abgespült, 4 Stunden auf 65° erhitzt, über Nacht bei Zimmertemperatur aufbewahrt und dann auf der elektrischen Zentrifuge (3000 Umdrehungen) zentrifugiert wurde. Der Extrakt muß vollkommen klar sein; nachdem makroskopisch keine Trübung mehr sichtbar war, haben wir dennoch weitere 2 Sunden zentrifugiert, denn die vollkommene Entfernung der Bakterien ist unerläßliche Voraussetzung. Von der keimfreien Filtration haben wir wegen des großen Verlustes, der dabei zustande kommt, abgesehen. Die Extrakte haben wir nie länger als 4 bis 5 Tage verwendet.

Die Immunsera wurden durch dreimalige intravenöse Injektion des oben erwähnten Extraktes in der Dosis von 1 bis 2 ccm von Kaninchen gewonnen. Die Immunsera sind nach der Entnahme zu inaktivieren, damit sie nicht eigenhemmend wirken. Ein Immunserum ist dann brauchbar, wenn es nach 1stündiger Erhitzung auf 72° in der Dosis von mindestens 0,01 ccm mit 0,01 ccm Extrakt komplementbindend wirkt. Das hämolytische Hammelantiserum hatte den Titer 0,0005 und wurde in der Dosis von 0,0015 bis 0,002 angewendet. Das ganze System war so eingestellt, daß die Kontrollen (Extrakt, Immunserum, Bakterienemulsion) gewöhnlich in 20 Minuten komplett gelöst waren. Die Versuchsdauer wurde auf 2 Stunden ausgedehnt.

Die Versuche wurden nun in folgender Weise ausgeführt. I zeigt uns die Stärke des komplementbindenden Systems (Extrakt + Immunserum + Komplement). II. Nach 1stündigem Aufenthalt vom Extrakt + Immunserum bei 37° wird jedem Röhrchen 1 ccm Choleraemulsion hinzugesetzt (1 vollbewachsene Agarkultur wird in 10 ccm NaCl abgespült), nach weiterem 1stündigem Verweilen bei 37° werden sämtliche Röhrchen vollkommen klar zentrifugiert; Abguß und Bodensatz werden getrennt untersucht. Der Bodensatz wird, um die Bakterien abzutöten, 15 Min. auf 65° erhitzt, denn die lebenden Bakterien bedingen eine störende Verfärbung der roten Blutkörperchen. III. Dieselbe Menge von Choleravibrionen wird zu den Immunserumverdünnungen in NaCl gegeben; sonst ebenso wie II behandelt. Nach dem Zentrifugieren kommt zum Abguß je 0,1 Extrakt. In diesen Proben wird festgestellt, wieviel die Bakterien vom Immunserum binden. IV enthält die Kontrollen, indem zum

Tabelle

I.		Extr.	Immunserum		Immunserum II 1 Std.	1 Std. 72° 2 Std.
Wie in Tabelle I.		0,1	0,05	Zu jedem Röhrchen 0,1 ccm Komplement nach 1 Stunde mit der 3fach lösenden Dosis sensibilisierter Hammelblutkörperchen in der Menge von 1 ccm in 5%iger Aufschwemmung.	0	0
		0,1	0,03		0	0
		0,1	0,01		0	0
		0,1	0,005		0	Spürchen
		0,1	—		komplett	komplett
		—	0,05		,,	,,
II.		**Extr.**	**Ursprüngliche Immunserumdosis**		**1 Std.**	**2 Std.**
Wie in Tabelle I.	Abguß bestehend aus:	1. 0,1	0,05		0	Spur
		2. 0,1	0,03		stark	stark
		3. 0,1	0,01		komplett	komplett
		4. 0,1	0,005		,,	,,
		5. 0,1	—		,,	,,
	Bodensatz bestehend aus:	Choleravibrionen v. 1.			0	0
		,, v. 2.			0	0
		,, v. 3.			0	0
		,, v. 4.			0	Spur
		,, v. 5.			komplett	komplett
III.		**Extr.**	**Ursprüngliche Immunserumdosis**		**1 Std.**	**2 Std.**
Wie Tabelle I. Nur wird nach dem Zentrifugieren der Bakterien zum Abguß je 0,1 ccm Extrakt gegeben, um zu bestimmen, wieviel Immunkörper die Vibrionen im Immunserum-NaCl-Gemisch gebunden haben.	Abguß bestehend aus:	1. 0,1	0,05		wenig	mäßig
		2. 0,1	0,03		f. kompl.	f. kompl.
		3. 0,1	0,01		komplett	komplett
		4. 0,1	0,005		,,	,,
		5. 0,1	—		,,	,,
	Bodensatz bestehend aus:	Choleravibrionen v. 1.			0	0
		,, v. 2.			0	0
		,, v. 3.			0	0
		,, v. 4.			0	0
		,, v. 5.			komplett	komplett
IV. (Kontrollen)		**Extr.**	**Immunserum**		**1 Std.**	**2 Std.**
a) Extrakt-Immunserumgemisch mit Typhusbacillen behandelt, zentrifugiert und Bodensatz und Abguß untersucht.	Abguß	1. 0,1	0,05 a)		0	0
		2. 0,1	0,03 a)		0	0
	Bodens.	Typhusbac. v. 1. a)			komplett	komplett
		,, v. 2. a)			,,	,,
b) NaCl-Immunserumverdünnungen mit Cholera behandelt und Abguß untersucht. Entspricht III in Tabelle I.		NaCl	Immunser. b)			
		0,1	0,05 b)		,,	,,
		0,1	0,03 b)		,,	,,

Extrakt-Immunserumgemisch Typhusbacillen hinzugesetzt wurden und dann nach dem Zentrifugieren ebenfalls Abguß und Bodensatz getrennt untersucht wurde. Weiter wurden zu den stärksten Immunserumkonzentrationen Choleravibrionen hinzugesetzt und die Abgüsse untersucht, um zu sehen, ob vollständig zentrifugiert wurde und ob aus den

II.

Immunserum III 1 Std.	1 Std. 72° 2 Std.	Immunserum 1 Std.	1 Std. 72° 2 Std.	Immunserum II 1 Std.	1 Std. 72°
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
stark	f. komplett	Spürchen	schwach	0	0
komplett	komplett	mäßig	mäßig	0	Spur
"	"	komplett	komplett	komplett	komplett
"	"	"	"	"	"
1 Std.	**2 Std.**	**1 Std.**	**2 Std.**	**1 Std.**	**2 Std.**
komplett	nach 45 Min.	f. kompl. nach 50 Min.	f. kompl.	stark	f. komplett
komplett		komplett „ 30 „		f. komplett	komplett
"	nach 10 Min.	" " 20 "		komplett	"
"		" " 20 "		"	"
"		" " 20 "		"	"
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
stark	f. komplett	Spur	stark	0	0
komplett	komplett	wenig	komplett	0	0
"	"	komplett	"	komplett	komplett
1 Std.	**2 Std.**	**1 Std.**	**2 Std.**	**1 Std.**	**1 Std.**
komplett	nach 30 Min.	f. kompl. nach 40 Min.	f. kompl.	stark	stark
"		komplett „ 30 „		f. komplett	f. komplett
"	nach 10 Min.	" " 20 "		komplett	komplett
"		" " 20 "		"	"
"		" " 20 "		"	"
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	stark	Spur	Spur	0	0
stark	f. komplett	mäßig	f. komplett	0	Spürchen
komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
1 Std.	**2 Std.**	**1 Std.**	**2 Std.**	**1 Std.**	**2 Std.**
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
"	"	"	"	"	"
"	"	"	"	"	"
"	"	"	"	"	"

Bakterien während der 1 stündigen Behandlung Stoffe in Lösung gehen. Wenn eines von beiden der Fall wäre, so würde dann diese Kontrolle Hemmung (Komplementbindung) aufweisen. Die Bakterienbodensätze, die meist starke Agglutination aufweisen, müssen **sehr sorgfältig** zerschüttelt werden, da sie sonst aus mechanischen Gründen zur Komple-

mentbindung nicht befähigt sind. Zu sämtlichen Röhrchen wurde 1 ccm der Komplementverdünnung 1:10 und nach 1stündiger Einwirkung der Temperatur von 37° je 1 ccm 5%iger sensibilisierter Hammelblutkörperchen hinzugefügt.

Den Versuchen in Tab. II entnimmt man, wie den beiden bereits mitgeteilten, daß die dem Extrakt-Immunserumgemisch zugesetzten Vibrionen[1]) die komplementbindenden Immunkörper beinahe in derselben Menge vorfinden als im Kochsalz-Immunserumgemisch. „Beinahe“ sagen wir aus dem Grunde, weil wir sehen, daß in einigen Versuchen die Bakterien bei Extraktanwesenheit in der höchsten Immunserummenge etwas weniger absorbieren und in den geringsten Dosen die Bakterien im Extrakt etwas schwächer sensibilisiert sind als in der NaCl-Lösung. Dies deutet darauf hin, daß zwischen Extrakt und Immunserum doch eine geringe Reaktion im Sinne einer Bindung erfolgt. Diese geringe Bindung ist aber für das Phänomen der Komplementbindung völlig bedeutungslos, denn wenn diese Bindung die Ursache der Komplementfixation wäre, so dürften gerade die geringsten komplementbindenden Extrakt-Immunserumdosen durch Bakterienbehandlung nicht unwirksam werden. Wir werden im Laufe dieser Mitteilung noch darauf zurückkommen, worauf die geringe Verankerungsfähigkeit des Extraktes, die, worauf wir nochmals hinweisen, für die Ursache der Komplementbindung in unserer Versuchsanordnung keine Bedeutung besitzt, beruht.

Bevor wir jedoch den bindenden Schluß ziehen, daß zwischen Extrakt und Immunserum eine Bindung gar nicht erfolgt und deshalb derselbe gar nicht die Bedingung der Komplementfixation darstellen kann, müssen wir nachfolgende Möglichkeiten in Erwägung ziehen. Es kann nämlich nach den Feststellungen von Morgenroth, der diese Verhältnisse bei Blutkörperchen untersucht hat, ein Überspringen von einem Receptor auf den anderen stattfinden, so daß diese Tatsache, auf unsere Ver-

---

[1]) Die Menge der Vibrionen darf nicht zu gering sein, weil sonst zu wenig Immunkörper gebunden werden und die Abgüsse noch komplementbindend wirken, wie dies in den Versuchen von Tojosumi der Fall war. Da es aber dort nur darauf ankam, zu zeigen, daß bakteriolytische Amboceptoren nicht intervenieren, so hatte dies keine Bedeutung.

Tabelle III.

Zu allen Röhrchen 0,1 Komplement und nach 1 Std. sensibilisierte Hammelblutkörp.

I.	a) Extr.	Immunserum 72°	1 Std.	2 Std.	In allen Röhrchen kam 0,2 Extr. zur Anwendung 1 Std.	2 Std.
Extrakt-Immunserumverdünnungen. a) erhitztes Immunserum, b) unerhitztes Immunserum.	0,15	0,05	0	0	0	0
	0,15	0,01	0	0	0	0
	0,15	0,005	0	0	0	0
	0,15	—	kompl. nach 20 Min.		kompl. in 30 Min.	
	—	0,05	,, ,,	,, ,,	,, ,,	,, ,,
	b) Extr.	Immunser. 56°				
	0,15	0,05	0	0		
	0,15	0,01	0	0		
	0,15	0,001	mäßig	f. komplett		
II.	a) Extrakt und eventuell abgesprengte Immunkörper. 72°.					
Die Immunserumverdünnungen werden mit Vibrionen behandelt, zentrifugiert, der Bodensatz nicht gewaschen und in Extrakt aufgeschwemmt und 1 Std. bei 37° belassen, dann wird abermals zentrifugiert und gewaschen und der Bodensatz untersucht. a) mit auf 72° erhitztem Serum, b) mit auf 56° erhitztem Serum.	Abguß bestehend aus: 1.	0,15	kompl. nach 20 Min.		kompl. nach 30 Min.	
	2.	0,15	,,		,,	
	3.	0,15	,,		,,	
	Bodensatz: Vibrionen v. 1.		0	0	0	
	,, ,, 2.		0	0	0	
	,, ,, 3.		0	0	0	
	,, in NaCl		kompl. nach 40 Min.		kompl. nach 40 Min.	
	b) Dasselbe, nur mit 56° Immunserum.					
	Abguß: 1.		kompl. nach 20 Min.			
	2.		,,			
	3.		,,			
	Bodensatz: Vibrionen v. 1.		0	0		
	,, ,, 2.		0	0		
	,, ,, 3.		mäßig	stark		
III.	a)					
Immunserum-Kochsalzverdünnung, darin Bakterien aufgeschwemmt, zentrifugiert und Bodensatz untersucht. a) Immunserum 72°, b) Immunserum 56°.	Vibrionen aus 0,05	72°	0	0	0	0
	,, ,, 0,01	,,	0	0	0	0
	,, ,, 0,005	,,	0	0	0	0
	b)					
	Vibrionen aus 0,05	56°	0	0		
	,, ,, 0,01	,,	0	0		
	,, ,, 0,001	,,	mäßig	stark		

suche übertragen, besagen würde, daß trotz Bestehens einer Bindung zwischen Extrakt und Immunkörper diese durch die nachträglich hinzugefügten Bakterien gesprengt würde. Bei den Versuchen von **Morgenroth** handelt es sich offenbar um ein Überspringen überschüssig gebundener Amboceptoren, denn nur

dadurch ist es erklärlich, daß alle Blutkörperchen gelöst werden. In unseren Versuchen war aber eine vollständige Desensibilisierung des Extraktes zustande gekommen, ein Umstand, der unsere Versuche mit denen Morgenroths nicht vergleichen läßt. Würden unsere Ermittelungen einfach dadurch ihre Erklärung finden, daß Immunkörper von den besetzten Receptoren auf nicht sensibilisierte überspringen, so müßte dies auch eintreten, wenn wir den in den bisherigen Versuchen eingeschlagenen Weg umkehren und zu im Überschuß sensibilisierten Bakterien nachträglich Extrakt zusetzen. Dies müßte um so eher eintreten, als nach den Anschauungen der Ehrlichschen Schule die freien Receptoren eine größere Avidität zu den Immunkörpern besitzen als die fixen. In der Tabelle III geben wir einige in diesem Sinne angestellte Versuche wieder.

Diese Versuche zeigen, daß ein Überspringen von Immunkörpern auf den Extrakt nicht stattfindet, obzwar hierfür die günstigsten Bedingungen gegeben waren. (Große Menge Extrakt, im Überschuß sensibilisierte, nicht gewaschene Bakterien.)

Die Versuche von Morgenroth haben weiter ergeben, daß dieses Überspringen nicht stattfindet, wenn durch Komplement die Reaktion bereits eingetreten ist. Auch diese Versuche haben wir angestellt. Obzwar auch der Ausfall derartiger Versuche im Sinne Morgenroths nicht gegen unsere Vorstellung sprechen würde, da eine scheinbare Nichtsensibilisierung der zum Extrakt-Immunserum-Komplementgemisch hinzugesetzten Vibrionen auf die Wirkung von Komplementoiden zurückgeführt werden könnte, so war doch das Resultat dieser Versuche in unserem Sinne vollkommen eindeutig.

Das nicht uninteressante Ergebnis der Versuche der Tab. IVa und IVb lehrt, daß selbst bei eingetretener Komplementbindung die komplementbindenden Immunkörper nicht verankert wurden, sondern quantitativ frei geblieben sind. Macht dieses Resultat die Einwände im Sinne der Morgenrothschen Versuchsanordnung hinfällig, so sind diese Experimente für die Auffassung der Komplementbindung im Lichte der jetzigen Vorstellungsweise so eigentümlich, daß wir auf sie noch zurückkommen müssen.

Tabelle IVa.

I.		Extrakt	Immunserum 1 Std. 72°		Immunserum III 1 Std.	Immunserum III 2 Std.	Immunserum III 1 Std.	Immunserum III 2 Std.
Extrakt - Immunserumverdünnungen.		0,1	0,05		0	0	0	0
		0,1	0,03		0	0	0	0
		0,1	0,01		0	wenig	0	0
		0,1	—		kompl. 15 Min.		komplett 15 Min.	
		—	0,05		„ 15 „		„ 15 „	
II.		Extrakt	Ursprüngliche Immunserumdosis	Komplement				
Extrakt-Immunserum-Komplement-Mischung, sonst wie II in Tabelle I, nur daß zum Abguß je 0,03 Immunserum gegeben wurde, um zu sehen, ob der Extrakt noch wirkungsfähig ist.	Abguß bestehend aus	1. 0,1	0,05 + 0,03	0,1	0	0	stark f. kompl.	
		2. 0,1	0,03 + 0,03	0,1	0	0	f. kompl.	komplett
		3. 0,1	0,01 + 0,03	0,1	0	0	komplett	„
		0,1	—	0,1	kompl. 15 Min.		„	„
	Bodensatz besteh. aus	Choleravibrionen von 1.			0	0	0	0
		„ „ 2.			0	0	0	0
		„ „ 3.			0	wenig	wenig	stark
		„ als Kontrolle			kompl. 25 Min.		komplett	
III.								
Wie III in Tab. I, nur daß hier nur der Bodensatz untersucht wird.	Bodensatz	Choleravibrionen aus 0,05 I.-S.			0	0	0	0
		„ „ 0,03 „			0	0	0	0
		„ „ 0,01 „			0	Spur	wenig	stark
		„ „ NaCl			kompl. 15 Min.		komplett	komplett
IV.		Extrakt	Immunserum	Komplement				
Extrakt-Immunserum-Mischungen wie in I. Nur war zu jedem Röhrchen außerdem 0,03 Immunserum und 0,1 Komplement gegeben.		0,1	0,08	0,1	0	0	wenig	f. kompl.
		0,1	0,06	0,1	0	0	f. kompl.	komplett
		0,1	0,04	0,1	0	0	komplett	„
		0,1	—	0,1	kompl. 15 Min.		„	„

Zu allen Röhrchen 0,1 Komplement und nach 1 Std. sensibilis. Hammelblutk.

(Zu II:) In diesem Versuche unterblieb d. nachträgliche Zugabe von 0,03 Immunserum.

(Zu IV:) Auch hier unterblieb d. nachträgl. Immunserumzugabe v. 0,03.

Ein weiterer wichtiger Einwand bestände darin, daß das Überspringen vom Extrakt auf Bakterien nicht spontan, sondern durch die größere Avidität der letzteren bedingt, erfolgen würde. Dagegen spricht folgendes: 1. Die bisher allgemein vertretene Anschauung, daß gerade das umgekehrte der Fall ist, indem den von den Bakterien losgelösten Receptoren die größere Avidität zukommen soll. 2. Die Tatsache, daß die Reaktion qualitativ und quantitativ in derselben Weise verläuft, ob wir Extrakt oder Vollbakterien (beides in den von uns in allen Versuchen verwendeten Mengen) nehmen. Denn wäre die Avidität der Bakterien ein so viel stärkerer als die der Extrakte, so müßten letztere quantitativ viel schwächer wirken als erstere.

Tabelle IVb.

I.	Extrakt	Immunserum		1 Std.	2 Std.
Extrakt-Immunserumverdünnungen.	0,1	0.08	Zu jedem Röhrchen 0,1 ccm Komplement und nach 1 Stunde sensibilisierte Hammelblutkörperchen.	0	0
	0,1	0,05		0	0
	0,1	0,03		0	0
	0,1	0,01		kompl. 1 St.	kompl.
	0,1	—		komplett n. 15 Min.	
	—	0,08		„ „ 15 „	
II.	Extrakt	Ursprüngliche Immunserummenge			
Wie II in Tabelle I.	Abguß 1. 0,1	0,08		f. kompl.	f. kompl.
	Abguß 2. 0.1	0,05		komplett n. 1 Std.	
	Abguß 3. 0,1	0,03		„ „ 20 Min.	
	Abguß 4. 0,1	0,01		„ „ 20 „	
	Abguß 5. 0,1	—		„ „ 20 „	
	Bodensatz Choleravibr. v. 1.			0	0
	Bodensatz „ „ 2.			0	0
	Bodensatz „ „ 3.			0	0
	Bodensatz „ „ 4.			wenig	mäßig
	Bodensatz „ „ 5.			komplett n. 30 Min.	
III.					
Wie II in Tabelle IVa. Nur wird hier nur der Bodensatz untersucht.	Bodensatz von Choleravibr. 1. wie in Tab.			0	0
	Bodensatz von „ 2. do.			0	0
	Bodensatz von „ 3. do.			0	0
	Bodensatz von „ 4. do.			wenig	mäßig
	Bodensatz von „ 5. do.			komplett n. 30 Min.	
IV.	Extrakt	Ursprüngliche Immunserummenge			
Wie III in Tab. II.	Abguß aus 1. 0.1	0.08		f. kompl.	f. kompl.
	Abguß aus 2. 0,1	0,05		komplett n. 50 Min.	
	Abguß aus 3. 0,1	0,03		„ „ 20 „	
	Abguß aus 4. 0,1	0,01		„ „ 20 „	
	Bodensatz von Choleravibr. v. 1.			0	0
	Bodensatz von „ „ 2.			0	0
	Bodensatz von „ „ 3.			0	0
	Bodensatz von „ „ 4.			Spur	wenig
V.	Extrakt	Immunserum			
Kontrollen wie IV in Tabelle IIa.	Abguß 1. 0,1	0,05		0	0
	Abguß 2. 0,1	0,03		0	Spur
	Bodensatz Typhusbacillen v. 1.			komplett n. 35 Min.	
	Bodensatz „ „ 2.			„ „ 35 „	

da ja die Bindung des Komplementes nach den jetzt herrschenden Anschauungen von der Avidität der Immunkörper zum Antigen abhängig ist. 3. Ferner wäre selbst bei stärkster Avidität des nachträglich hinzugesetzten Antigens die Absprengung bereits gebundener Immunkörper nie eine so vollständige, wie es hier der Fall ist, wenigstens existieren in der Immunitätslehre keine Analoga dafür.

Neben diesen theoretischen Gegeneinwänden muß sich auch im Experimente die größere Avidität des einen oder anderen Antigens nachweisen lassen, und zwar auf folgende Weise: Wenn man Extrakt, Immunkörper, Vollbakterien und Komplement zusammenmischt, wird das Komplement von dem Antigen verankert werden, das zum Immunkörper eine größere Avidität besitzt. In der angeführten Versuchsanordnung kann man an dem Auftreten der Granula oder dem Gegenteil bestimmen, ob das Komplement von dem Bakterienextrakt oder den Vollbakterien in Beschlag genommen wurde. Diese Experimente haben jedoch nur dann Beweiskraft, wenn das Komplement zum Extrakt geht, denn wir wissen, daß trotz Anwesenheit des Extraktes gleichzeitig oder später hinzugefügte Vibrionen sich sensibilisieren (Weil und Axamit, Tojosumi). Wenn also Immunkörper nicht im Überschuß vorhanden sind, so werden dieselben von den Bakterien quantitativ vollständig gebunden, so daß dieselben dem Extrakte für die Komplementbindungsreaktion nicht zur Verfügung stehen. Andererseits ist aber auch die Menge des Komplementes von großer Bedeutung, denn geben wir zuviel, so wird nur ein Teil desselben gebunden, und der übrige kann auf die sensibilisierten Vibrionen einwirken. Nach unseren Erscheinungen ist diejenige Menge von Komplement die richtige, die in nicht weniger als 2 Stunden bei 37° die sensibilisierten Vibrionen vollständig in Granula transformiert. Die unrichtige Dosierung der Komplement- und Immunserummenge bringt es mit sich, daß nicht alle Versuche gelingen.

Den in Tab. V mitgeteilten Versuchen entnimmt man, daß von einer größeren Avidität des Komplementes zu den sensibilisierten Bakterien keine Rede sein kann. Denn daß die Bakterien sensibilisiert sind, wissen wir aus den Versuchen von Tojosumi. Diese Experimente stimmen vielmehr vollkommen mit jenen überein, aus denen ja die Anhänger der Ehrlichschen Anschauung

auf die größere Avidität der freien Receptoren geschlossen haben. Können wir zwar auf Grund dieser Versuche nicht den strikten Schluß ziehen, daß das Komplement zu dem Extrakte die stärkere Avidität besitzt, da ja die Hälfte des Komplementes von je einem Anteil gebunden sein kann, so geht doch daraus mit aller Sicherheit hervor, daß eine stärkere Avidität der Bakterien zu den Immunkörpern nicht besteht, die man aber in hohem Maße annehmen müßte, wenn man eine vollkommene Lostrennung bereits gebundener Immunkörper durch Aviditätsdifferenzen für möglich hielte.

Tabelle V.

Die einzelnen Komponenten werden in folgender Reihenfolge zusammen gemischt: Erst Exktrakt, dann Immunserum (1 Std. auf 72° erhitzt) und schließlich die Vibrionen, die in der Komplementverdünnung (1:10) aufgeschwemmt sind. Vibronen werden stets in der Dosis von 1 ccm der Aufschwemmung, die wir stets gebraucht haben, zugesetzt.

	Extrakt	Immunserum	Komplement	Bakt.	Versuch I nach 2 Std.	Versuch II nach 2 Std.	Versuch III nach $2^1/_2$ Std.
1.	0,1	0,05	0,05	1 ccm	Vibrionen in Haufen, einzelne Granula	nur Granula	meist Vibrionen, spärlich Granula
2.	0,1	0,03	„	„	Vibrionen in Haufen, einzelne Granula	meist Vibrionen, wenige Granula	meist Vibrionen, spärlich Granula
3.	0,1	0,01	„	„	Vibrionen in Haufen, mehr Granula als bei 1 und 2	meist Vibrionen, wenige Granula	$^4/_5$ Vibrionen, $^1/_5$ Granula
4.	—	0,05	„	„	nur Granula in Haufen	nur Granula	nur Granula
5.	—	0,03	„	„	nur Granula in Haufen	„	„
6.	—	0,01	„	„	$^2/_3$ Granula, $^1/_3$ Vibrionen	meist Granula, wenig Vibrionen	„
7.	0,1 + Vibr. mit 0,05 sensib. u. gewaschen + 0,05 Komplement				nur Granula in Haufen	nur Granula	„
8.	0,1 + Vibr. mit 0,03 sensib. u. gewaschen + 0,05 Komplement				nur Granula in Haufen	„	„
9.	— 0,05 + 1 ccm				meist Vibrionen, wenige Granula	meist Vibrionen, wenig Granula in Häufchen	meist Vibrionen, wenig Granula

Nachdem wir auf Grund der bisher mitgeteilten Versuche dargelegt zu glauben haben, daß die spezifische Komplementbindung durch das Extrakt-Immunserumgemisch sich nicht mit Hilfe der jetzt allgemein anerkannten Anschauung, die darin einen Bindungsvorgang sieht, in Einklang bringen läßt, so sind wir zur Annahme gezwungen, daß diese Reaktion nach einem ganz anderen Mechanismus verläuft, von dem wir nur so viel mit Sicherheit sagen können, daß zwischen Extrakt und Immunkörpern eine Verankerung nicht zustande kommt.

Von Wichtigkeit scheint auch die Frage zu sein, ob die Bakterienextrakte jene Gruppen, die an den Vollbakterien die Verankerung vollziehen, überhaupt besitzen. Wir kommen hier auf die bereits eingangs angedeutete Frage zurück. Man kann nämlich beobachten, daß nach eingetretener Präcipitation im Extrakt Immunserumgemisch ist und nach Entfernung des Präcipitates sowohl der Extrakt unwirksam ist, als auch die Immunkörper aus demselben größtenteils verschwunden sind. Diese Beobachtung legte die Vermutung nahe, daß das Cholerapräcipitat in derselben Weise wie die Vollbakterien zur Verankerung befähigt ist. Daraufhin angestellte Versuche bestätigten dies. (S. Tab. VI).

Das Präcipitat aus Choleraextrakt mit Rinderserum hergestellt, ist befähigt, in spezifischer Weise die komplementbindenden Immunkörper zu verankern, im Gegensatz zum Präcipitat aus Typhusextrakt, das sich indifferent verhält. Daraus geht hervor, daß der gelöste Extrakt die verankerungsfähigen Gruppen zwar enthält, daß dieselben jedoch erst dann zur Wirkung gelangen, wenn sie in einer unlöslichen Form und zwar als Präcipitat vorhanden sind.

Durch die Bindungsfähigkeit des Präcipitates findet auch die Tatsache eine Erklärung, daß im Extrakt-Immunserumgemisch doch manchmal ein geringer Immunkörperverlust zu konstatieren ist. Es tritt nämlich, wie bereits erwähnt, in dem auf 72° erhitzten Serum öfters eine geringe Trübung ein, was besagt, daß selbst bei dieser hohen Temperatur das Cholera-Immunserum seine präcipitierende Fähigkeit nicht vollkommen verliert. Eine stärkere Erhitzung ist wegen der starken Abschwächung des Immunserums nicht angezeigt. Diese geringe

Tabelle VI.

Cholerapräcipitat: 5 ccm Choleraextrakt werden mit 10 ccm frischem Rinderserum ausgefällt und das Präcipitat zweimal mit Kochsalzlösung gewaschen.

Typhuspräcipitat: 10 ccm Typhusextrakt werden mit 10 ccm Rinderserum ausgefällt usw.

Je 0,2 ccm vom Cholera-Immunserum III (1 Std. 72°) werden mit dem Typhus- und Cholerapräcipitat 1 Std. bei 37° behandelt und hierauf zentrifugiert.

I.	Extrakt	Immunserum		1 Std.	2 Std.	Nach 2 Std.
Extrakt-Immunverdünnung.	0,1	0,05	Zu jedem Röhrchen 0,1 Komplement nach 1 Std. sensib. Blutk.	0	0	0
	0,1	0,03		0	0	0
	0,1	0,01		0	0	0
	0,1	0,005		0	Spur	0
	0,1	—		komplett	15 Min.	komplett
		0,05		"	"	"
II.	Extrakt	Immunserum mit Chol.-Präcipitat behandelt				
Dieselbe Extraktdosis wird mit dem mit Cholerapräcipitat behandelten Immunserum gemischt.	0,1	0,05		komplett	20 Min.	0
	0,1	0,03		"	15 "	komplett
	0,1	0,01		"	15 "	"
	0,1	0,005		"	15 "	"
	—	0,05		"	15 "	"
III.	Extrakt	Immunserum mit Typhuspräcipitat behandelt				
Dasselbe wie II, nur wird das mit Typhuspräcipitat behandelte Immunserum verwendet.	0,1	0,05		0	0	0
	0,1	0,03		0	0	0
	0,1	0,01		0	0	0
	0,1	0,005		Spürchen	wenig	Spur
	—	0,05		komplett	15 Min.	komplett
IV.	Typhus-Extrakt	Chol.-Immunserum				
Kontrolle.	0,1	+ 0,05		komplett	15 Min.	komplett
	0,1	0,03		"		"
	0,1	—		"		"
	a) Cholerapräcipitat, das zur Behandlung gedient hatte			0		0
	b) Typhuspräcipitat, das zur Behandlung gedient hatte			komplett	30 Min.	komplett

Präcipitation, die unter Umständen auch der makroskopischen Beobachtung entgehen kann und durch die Zentrifuge nicht entfernbar zu sein braucht, führt zur Bildung eines corpusculären Komplexes, der nach unseren Feststellungen verankerungsfähig ist, und den allerdings ganz geringen Immunkörperverlust bedingt. Dieser ist aber, wie die entsprechenden Kontrollen ergeben, für die von uns dargelegte Auffassung ganz ohne Bedeutung.

Wir müssen also das Phänomen der spezifischen, durch Bakterienextrakt und Immunkörper hervorgerufenen Komplementbindung so auffassen, daß beide Stoffe, ohne daß es zu eine Verankerung kommt, sei es durch andersartige gegenseitige Einwirkung oder Veränderung des Mediums, das Komplement fixieren. Dieselbe Veränderung des Mediums wird auch dann eintreten, wenn das bakterielle Antigen in corpusculärer Form, sei es als Präcipitat oder als Vollbakterien, vorliegt; hier wirkt aber das Antigen durch seine veränderte Form gleichzeitig in spezifischer Weise immunkörperbindend. Die Tatsache, daß bereits nach eingetretener Komplementbindungsreaktion die komplementbindenden Immunkörper dem corpusculären Antigen nahezu quantitativ zur Verfügung stehen, läßt sich schwer mit der bestehenden Anschauung in Einklang bringen, da ja die komplementophile Gruppe des Immunkörpers durch das Komplement resp. Komplementoid ausgeschaltet sein sollte. Ob sich dieser Umstand mit der Amboceptorennatur der komplementbindenden Antikörper vereinbaren läßt, ist sehr fraglich.

Der ganze Vorgang erinnert an die Wirkung von Fermenten, die ja in wesentlicher Menge bei der Reaktion nicht verbraucht werden und demnach wohl eine Verbindung mit dem Substrat, auf das sie einwirken, nicht eingehen. Es wäre von Interesse, bei Fermenten ähnliche Versuche anzustellen, ob sich die bei Immunkörpern festgestellte Differenz auch hier auffinden läßt, wenn man das Substrat in gelöster und ungelöster Form den Fermenten zur Verfügung stellt.[1])

Es fragt sich nun, ob die hier festgestellten Tatsachen für alle Bakterien Gültigkeit haben. Obzwar es sehr wahrscheinlich ist, so können wir doch darüber nichts Bestimmtes aussagen. Wir haben dieselben Versuche mit einem Typhus-

[1]) Die in diesem Hefte mitgeteilten Versuche von Starkenstein beschäftigen sich mit dieser Frage und stellen die vollkommene Analogie fest.

stamm angestellt, der sich jedoch aus dem Grunde nicht eignete, weil die Immunsera nach Erhitzung auf 72° nur sehr schwach komplementbindend wirkten und weil der Stamm selbst eine sehr geringe Bindungsfähigkeit für Immunkörper aufwies, welche beiden Umstände selbstverständlich die Resultate beeinträchtigen. Wir bitten daher jene Autoren, die sich für diese Frage interessieren, unseren Stamm zu benutzen, den wir gerne zur Verfügung stellen.

Es wäre nun zu erwägen, inwieweit unsere Feststellungen, die ja eine grundlegende Tatsache der jetzt geltenden Immunitätstheorie als nicht zutreffend erscheinen lassen, die Seitenkettentheorie überhaupt berühren. Der nächstliegende Gedanke wäre, daß der gelöste Bakterienextrakt, der als solcher haptophore Gruppen nicht besitzt und doch in hohem Maße antigen wirkt,[1]) dies in anderer Weise bewirken muß, als durch verankerungsfähige Gruppen, die aber nach Ehrlich die Hauptbedingung für die Antikörpererzeugung bilden. Dieser Schluß wäre jedoch nicht vollkommen berechtigt. Denn wenn der Extrakt unlöslich wird, besitzt er, wie wir gezeigt haben, verankerungsfähige Gruppen, und man kann sich vorstellen, daß im Tierkörper durch die Wirkung der normalerweise vorhandenen Präcipitine die Erschließung dieser Receptoren erfolgt; die Gegeneinwände, daß es im Organismus nicht zur Präcipitation kommt, erscheinen doch nicht genug vollwertig. Eine Schwierigkeit, der die Ehrlichsche Theorie begegnet, ist auch darin zu suchen, daß es bisher nicht einwandfrei gelungen ist, die im Serum vorhandenen Antikörper auch in den Organzellen zu finden. Diesbezügliche Versuche von Weil und Braun sind negativ verlaufen. Wir hielten uns jedoch nicht zu dem Schlusse berechtigt, daß die Receptoren in den Organzellen fehlen, sondern man könnte immerhin den Einwand machen, daß die an den Zellen fixierten Receptoren infolge einer besonderen Bindung im Sinne Ehrlichs nicht wasserlöslich sind. Diese Untersuchungen wurden von Tojosumi weitergeführt, indem er die Bindungsfähigkeit von Zellemulsionen gegenüber Bakterienbestandteilen prüfte. Diese

[1]) Wir haben 4 Kaninchen mit je 1 ccm keimfrei filtrierten Cholera-Extrakt einmal intravenös behandelt und bei allen einen Agglutinationstiter von 1:1000 erzielt.

Experimente ergaben, daß Zellenemulsionen dem Bakterienextrakt seine biologischen Wirkungen (Präcipitation, Komplementbindung) nehmen. Obzwar nicht der Nachweis erbracht wurde und es auch nicht wahrscheinlich ist, daß es sich hierbei um eine Receptorenwirkung handelt, so müssen wir doch auch die Anschauungen jener, die dies behaupten, gelten lassen.

Die Seitenkettentheorie steht und fällt mit der Bedeutung der haptophoren Gruppe für die Antikörpererzeugung. An deren Bedeutung muß man doch etwas zweifelhaft werden, trotz aller Gegeneinwände von seiten der Ehrlichschen Anhänger, wenn man folgendes bedenkt. Einmal gibt es Stoffe, die trotz Erhaltenseins der haptophoren Gruppen nicht antikörpererzeugend wirken, das anderemal solche, die mit geringen bindenden Gruppen, deren problematische Erschließung erst im Tierkörper erfolgen müßte, im höchsten Grade Immunstoffe ausbilden. Zur Erklärung dieser Tatsache wird ein Reiz zu Hilfe genommen, der bei den ersterwähnten Stoffen fehlt, bei den letzterwähnten aber sehr groß sein müßte. Abgesehen davon, daß die Reizhypothese der Seitenkettentheorie nicht sehr zuträglich ist, da ja gerade die Ausschaltung der haptophoren Gruppen durch Bindung den Reiz für die Neubildung darstellen sollte, so fragt es sich angesichts der eben angeführten Versuchstatsachen, ob nicht dieser unbekannte und allerdings auch nichts erklärende Reiz das Hauptmoment und die bindenden Gruppen das Nebensächliche darstellen. Man darf sich auch nicht verhehlen, daß durch die Erklärung jener Tatsachen, wo bei fehlenden bindenden Gruppen (im Reagensglase) und doch vorhandener antigener Wirkung der Tierkörper das feinere Reagens darstellen und im umgekehrten Falle ein spezifischer Reiz notwendig sein soll, die Seitenkettentheorie unangreifbar gemacht und jeder experimentellen Forschung in dieser Richtung Schloß und Riegel vorgeschoben wird.

Auch die bekannten Versuche von Dungern, Neißer und Lubowski und Sachs, die gezeigt haben, daß sensibilisierte Antigene nur in geringem Maße antikörperbildend wirken und die als Hauptstütze für die Wichtigkeit der bindenden Gruppen angesehen werden, lassen eine andere Erklärung zu. Denn man muß in Betracht ziehen, daß nach den Versuchen von Pfeiffer und Friedberger, Bail und Tsuda die an die Antigene verankerten Immunkörper im Organismus wieder abgesprengt werden,

was auch zu einem Freiwerden der Receptoren und zu einer antigenen Wirkung derselben führen müßte. Man muß berücksichtigen, daß man mit einem großen Überschuß von Immunkörpern arbeiten muß, um die verminderte Antikörperausbildung zu erzielen. Was geschieht nun, wenn derartige im Überschuß sensibilisierte Blutkörperchen oder Bakterien eingesetzt werden? Sie werden im Körper durch die Wirkung des Komplementes sofort restlos aufgelöst, wovon man sich ja im Pfeifferschen Versuch überzeugen kann. Bei diesem intensiven Destruktionsprozeß können sehr wohl die antigenen Gruppen derart geschädigt werden, daß sie nicht mehr in der Menge wie normale oder wenig sensibilisierte Antigene, die im Körper viel langsamer und schonender zerstört werden, Antikörper erzeugen. Denn daß eingreifende lytische Prozesse auch extra corpus die antigene Wirkung herabsetzen, wissen wir durch die Versuche von Pfeiffer und Friedberger.

Die hier gegen die Seitenkettentheorie vorgebrachten Bedenken sollen jedoch nicht so gedeutet werden, als ob wir die großen Vorteile, die diese Theorie gebracht hat und noch bringt, leugnen wollten. Denn wir sind uns bewußt, daß wir alle, die wir auf dem Gebiete der Immunität experimentell arbeiten, im Sinne der Ehrlichschen Anschauungen denken und auch heute noch in neu erschlossene Gebiete mit deren Hilfe eindringen können. Wir haben vielmehr die Überzeugung, daß die Ehrlichsche Theorie, wenn sie, was ja das Schicksal einer jeden Hypothese ist, an sich nicht mehr genügen wird, das Fundament für die neue Theorie abgeben wird.

Literatur.

Bail und Kikuchi, Arch. f. Hygiene 53.
Bail und Tsuda, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1, 4, 1909.
Dungern, Münch. med. Wochenschr. 1900, Nr. 20.
Morgenroth, Münch. med. Wochenschr. 1903, Nr. 2.
Neißer und Lubowski, Centralbl. f. Bakt. 30.
Pfeiffer und Friedberger, Centralbl. f. Bakt. 34, 1903.
Sachs, Centralbl. f. Bakt. 30.
Tojosumi, Centralbl. f. Bakt. 48, H. 3.
Tojosumi, diese Zeitschr. 20, 1909.
Weil, Arch. f. Hygiene 53.
Weil und Axamit, Berl. klin. Wochenschr. 1906, Nr. 53.
Weil und Braun, diese Zeitschr. 17, 1909.

Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide.

IX. Mitteilung.

Studien am Alkalieiweiß.

Von

Wolfgang Pauli und Hans Handovsky.

(Aus der biologischen Versuchsanstalt in Wien [Physikalisch - chemische Abteilung].)

(*Eingegangen am 21. Januar 1910.*)

Mit 2 Figuren im Text.

Die physikalisch-chemische Konstitution und die Zustandsänderungen von Alkaliproteinlösungen und ihren Kombinationen mit Elektrolyten zeigen viele gemeinsame Züge mit den bereits beschriebenen[1]) Eigenschaften von Säureeiweiß. Die Abweichungen in Einzelheiten beruhen vornehmlich auf der verschiedenen Basen- und Säuredissoziationskonstante des als amphoterer Elektrolyt reagierenden Eiweißes, woraus sich beträchtliche Unterschiede der mit Säuren oder Alkalien gebildeten Eiweißsalze ergeben, oder sie sind in der verschiedenen Reversibilität und Reaktionsgeschwindigkeit der bei Einwirkung von Säuren und Laugen auf Eiweißstoffe eintretenden Umlagerungs- und Zerfallsprozesse begründet. Neben allen diesen Besonderheiten, die in dieser und den folgenden Mitteilungen noch ihre nähere Erörterung finden sollen, besteht ein weitgehender Parallelismus im Verhalten von Alkali- und Säureeiweiß. Wie dieses, so verliert auch das Laugenprotein mit der Erlangung einer stärkeren, hier elektronegativen Ladung seine Koagulierbarkeit durch Hitze und Alkohol. Zugleich erfährt seine Viscosität eine starke Erhöhung. Durch Überschuß von Alkali wird, ähnlich wie beim Säureeiweiß durch ein Plus

[1]) **Pauli** und **Handovsky**, diese Zeitschr. 18, 340, 1909.

an Säure, die Alkoholfällbarkeit restituiert (Schorr[1]) und die innere Reibung wieder vermindert. In dem gleichen Sinne wirkt ein Zusatz von Neutralsalz zu Alkalieiweiß: Gerinnbarkeit durch Alkohol und Hitze stellt sich ein, ebenso eine Abnahme der Viscosität.

Diese eigentümlichen, miteinander innig zusammenhängenden Eigenschaftsänderungen von Alkalieiweiß, denen noch andere angeschlossen werden können, lassen sich wie beim Säureprotein auf eine gemeinschaftliche Wurzel zurückführen, auf die Verschiedenheit von ionischem und elektrisch neutralem Eiweiß, die gewaltige Unterschiede in der Hydratation und Aggregationsfähigkeit der Eiweißteilchen zur Folge hat.

I.

Einen wertvollen Einblick in die Verhältnisse beim Alkalieiweiß gewährt zunächst das Studium der Hitzegerinnung.

Ein wie in den früheren Versuchen mit besonderer Sorgfalt dialysiertes Rinderserum vom N-Gehalte 0,39025 in 100 ccm, entsprechend ca. 2,44% Eiweiß koagulierte halbverdünnt bei 64,7° C. In einer Versuchsreihe fand sich, daß diese Hitzegerinnbarkeit bei einem Gehalte von 0,003 n-NaOH oder 0,07 n-NH_4OH vollständig aufgehoben wurde. Eine merkliche Hemmung der Hitzekoagulation fand sich schon bei 0,0005 n-NaOH.

Durch Zugabe von Neutralsalzen zu einem durch Hitze ganz inkoagulablen Laugeneiweiß kann die Hitzegerinnbarkeit mehr oder minder restituiert werden.

Die folgenden Tabellen orientieren über die Rolle der Konzentration und der verschiedenen Ionen bei dieser Hitzegerinnung. Die Beobachtungen sofort und 24 Stunden nach dem kurzen Aufkochen der Proben sind nicht wesentlich verschieden. Überall wurde das Serum halbverdünnt verwendet. Die gebrauchte Bezeichnungsweise der verschiedenen Grade der Trübung oder Flockenbildung[2]) soll auch fernerhin wegen ihrer Abstufbarkeit beibehalten werden.

---

[1]) Wird ausführlich veröffentlicht; vgl. Pauli, Kolloidchemische Studien am Eiweiß. Dresden 1908.

[2]) Es bedeutet — klar, + zarte Trübung, ++ milchig undurchsichtig, +++ grobflockig in klarer Flüssigkeit; Zwischenstufen sind ± opaleszent, ±+ milchig durchscheinend, ±±+ und ±++ fein- oder mittelflockig in schwach trüber Flüssigkeit, durch Verwendung der Zeichen ∓, ±± usf. lassen sich noch feinere Variationen vergleichsweise bezeichnen.

Tabelle I.

Rolle der Anionen.

Salzgehalt	Überall 0,003 n-NaOH			0,005 n-NaOH
	0,05 n	0,1 n	0,15 n	0,1 n
KF	±+	±++	+++	±
K_2SO_4	±±	++	+++	±
$KC_2H_3O_2$	±+	++	+++	±
KCl	±±	++	±++	±
KNO_3	±±	++	±++	±
KBr	±±	++	±++	±
KSCN	+	++	++	±

Tabelle II.

Rolle der Kationen.

Salzgehalt	Überall 0,003 n-NaOH		0,015 n-NaOH
	0,01 n	0,05 n	0,1 n
KCl	—	±±	—
NaCl	—	±+	—
LiCl	+	±±+	—
NH_4Cl	±+	±++	++
$MgCl_2$	+++	+++	+++
$CaCl_2$	+++	+++	+++
$SrCl_2$	+++	+++	+++
$BaCl_2$	+++	+++	+++

Die Wiedererlangung der Koagulierbarkeit von Alkalieiweiß durch Salzzusatz wird von den verschiedenen Ionen in charakteristischer Weise befördert.

Zum Unterschiede vom Säureeiweiß tritt hier die Bedeutung der Kationen der zugesetzten Elektrolyte stark hervor. Während beim Säureeiweiß zwischen dem Einfluß von Alkaliionen und der zweiwertigen Erdalkaliionen (und Mg) keine große Differenz besteht, ist beim Laugeneiweiß der Unterschied sehr ausgesprochen. In Konzentrationen, in denen die Alkaliionen kaum oder gar nicht wirken, veranlaßt die Gruppe der Erdalkaliionen eine vollständige grobflockige Hitzekoagulation, selbst bei einem bedeutenden Laugengehalt (0,015 n NaOH).

Die eigenartige Stellung des NH_4-Ions, das an Gerinnungsbeförderung die anderen Alkaliionen übertrifft, erklärt sich leicht aus dessen den Gehalt an Hydroxylionen stark verminderndem Einflusse. Li wirkt ein wenig stärker als die Ionen Na und K.

Die Unterschiede in der Anionenwirkung auf die Hitzekoagulation von Alkalieiweiß sind dagegen nicht groß. Fluorid wirkt etwas stärker, Rhodanid schwächer als die übrigen Anionen, eine Differenz, die auch bei der Neutralsalzfällung von elektronegativem Eiweiß beobachtet ist.

Zu einem quantitativen Studium der Beeinflussung der Hitzekoagulation von Laugeneiweiß (durch Bestimmung der Gerinnungstemperatur) sind die Alkalisalze wenig geeignet. Denn auch bei recht hohem Salzgehalt bleibt die Hitzegerinnung unvollständig, da es nicht zur groben Flockenbildung, sondern nur zu einer milchigen Trübung kommt. In der folgenden Tabelle (III) sind unter I die Temperaturen, bei denen die Lösungen Opalescenz zeigen, unter II die, bei denen die Trübung maximal wird, angeführt. Daß die Koagulierbarkeit mit steigendem Salzgehalt wächst, ist erkennbar, ebenso, daß die Temperaturen recht hoch liegen, bei denen die Trübung stärker wird.

Die Ablesungen sind, wie in früheren Arbeiten[1]), durch Verschwinden geeigneter Druckproben hinter der getrübten Lösung ermittelt.

Tabelle III.

Rinderserum, 0,003 n-NaOH und KCl.

Salzgehalt KCl	0,1 n	0,2 n	0,3 n	0,4 n	0,6 n	0,9 n	1,2 n
Koagulationsgrad I	76°	75°	74°	72,6°	71,5°	69,5°	69°
Koagulationsgrad II	—	98°	93°	91,8°	82°	79,4°	79,8°

Bemerkenswert ist noch, daß, trotz der unvollständigen Koagulation auch bei hohem Salzgehalt, die untere Grenze der eben merklichen Salzwirkung niedrig ist. Sie beträgt für 0,003 n-NaOH gleichfalls 0,003 n-KCl. Die Proben bei höherem Salzgehalt zeigen deutliche Zunahme der Opazität beim Stehen und Abkühlen. Hingegen war eine Aufhellung durch neuerliches Erhitzen der kalten Lösungen bei den niederen Salzkonzentrationen sicher nicht vorhanden, bei 1,2 n-KCl war das Verhalten zweifelhaft.

[1]) Pauli, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 53, 1907. — Pflügers Archiv 78, 315, 1899.

Bedeutend ergiebiger als die Alkalisalzwirkung auf die Hitzeausflockung von Laugeneiweiß ist die durch die Verbindungen der Erdalkalien hervorgerufene. Daß es sich auch hier um eine direkte Salzwirkung und nicht um eine indirekte Erscheinung durch Alkalescenzverminderung infolge Umsetzung in die schwächer dissoziierenden Erdalkalihydroxyde handelt, geht aus folgendem hervor:

1. Ist die Erdalkaliwirkung schon bei einer Konzentration deutlich, in der eine Differenz des Dissoziationsgrades von

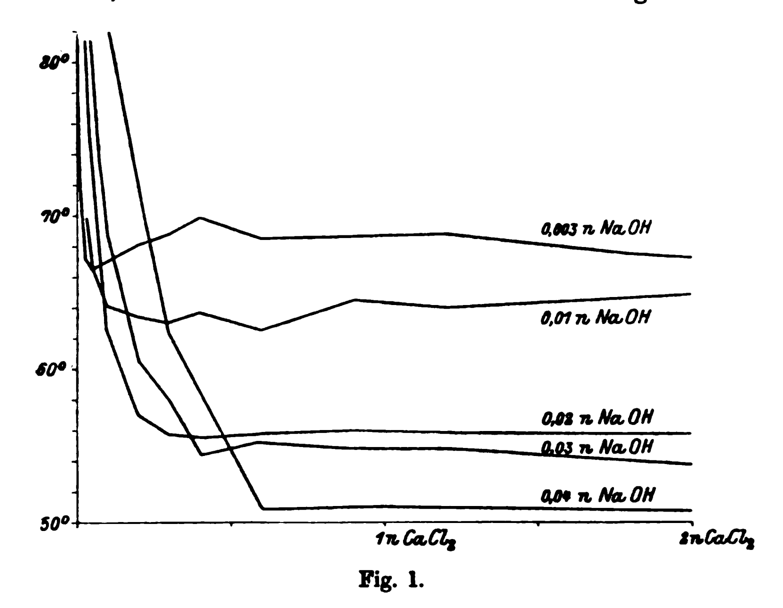


Fig. 1.

Alkali- und Erdalkalihydroxyd nicht besteht. So ist die Hitzebeförderung von Alkalieiweiß (0,003 n-NaOH) schon bei Zusatz von 0,0002 n-$CaCl_2$ nachweisbar.

2. Um die Wirkung von 0,0002 n-$CaCl_2$ bei 0,003 n-NaOH-Eiweiß ohne Salzzusatz zu erzielen, muß man die Alkalinität relativ stark, nämlich auf 0,002 n-NaOH herabsetzen.

3. Ammoniumsalze wirken, zu Alkalieiweiß zugefügt, bedeutend schwächer als Erdalkalisalze (vgl. Tabelle I), während sie eine weit stärkere Herabsetzung der Alkalinität hervorrufen. Letzteres ergibt sich ohne weiteres aus dem Vergleich der Dissoziationsgrade, deren Verhältnis $\alpha_{NaOH} : \alpha_{Ca(OH)_2} : \alpha_{NH_4OH}$ beispielsweise für 0,003 n-Lösungen 93:87:8 beträgt. Der di-

rekten Erdalkaliwirkung entspricht auch, daß zur gleichen Hitzegerinnung von 0,003 n-NaOH-Eiweiß einerseits ein 0,0002 n-$CaCl_2$-, andererseits 0,003 n-NH_4Cl-Gehalt erforderlich war.

Weitere Argumente für eine starke unmittelbare Erdalkaliwirkung auf die Hitzegerinnbarkeit von elektronegativem Eiweiß sollen unten folgen.

Über die quantitative Beeinflussung der Koagulationstemperatur durch Salz- und Alkaligehalt gibt die folgende Tabelle IV mit den zugehörigen Diagrammen (Fig. 1 und 2) Auskunft.

Tabelle IV.

Rinderserum halbverdünnt, Koagulationspunkte bedeuten völliges Verschwinden einer Druckprobe. Von 1 n-$CaCl_2$ ab Salz in Substanz zugesetzt. Das Minuszeichen bedeutet unvollkommene Gerinnung, n. u. nicht untersucht, die Pluszeichen entsprechen Fällungen schon bei Zimmertemperatur.

$CaCl_2$	NaOH				
	0,003 n	0,01 n	0,02 n	0,03 n	0,04 n
0,005 n	81,3—81,8	—	—	—	—
0,01 n	72,5	—	—	—	—
0,03 n	67,1	69,8—70	—	—	—
0,05 n	66,5	66,8—67	74,0	—	—
0,1 n	67,1	64—64,2	62,5	68—70,0	82,0
0,2 n	68,1	63,4	57,0	60,5	n. u.
0,3 n	68,8	63,0	55,8	58,0	62—62,2
0,4 n	69,8—70	63,6—63,8	55,6	54,4—54,6	n. u.
0,6 n	68,5	62,6	55,8	55,2	50,8—51
0,9 n	68,7	64—64,5	56,0	54,8	n. u.
1,0 n	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	51
1,2 n	68,8	64,0	55,8	54,8	n. u.
2 n	67—67,5	64,8	55,6—55,8	53,8	50,6—50,8
3 n	63,5	63,5—63,8	55,6	50,8—51,0	49,8
4 n	59,5	59,0	53,2	48,0	46—47
5 n	·	58,0	+	+	++
6 n	47—48,5	±+	++	±++	+++

Die Versuche zeigen vor allem, daß bei sehr niederen Erdalkali- und Laugenkonzentrationen ein Gleichgewicht besteht, das durch steigenden Salzgehalt im Sinne einer Verstärkung der Gerinnbarkeit — Sinken des Koagulationspunktes —, (Fig. 1) durch zunehmenden Laugengehalt in der Richtung einer Hemmung der Hitzegerinnung (Fig. 2) verschoben wird. Schließlich wird für jede Laugenkonzentration (0,003 bis 0,04 n) von einem gewissen Salzgehalt (0,1 bis 0,3 n) an eine konstante Lage der Gerinnungstemperatur erreicht, die innerhalb weiter Grenzen (0,3 bis 3 n) von Schwankungen des Salzgehaltes nicht

beeinflußt wird (Fig. 1). Stets liegt jedoch für diese Salzkonzentrationen mit wachsender Alkalescenz das Niveau des stabilen Gerinnungspunktes tiefer (Fig. 1).

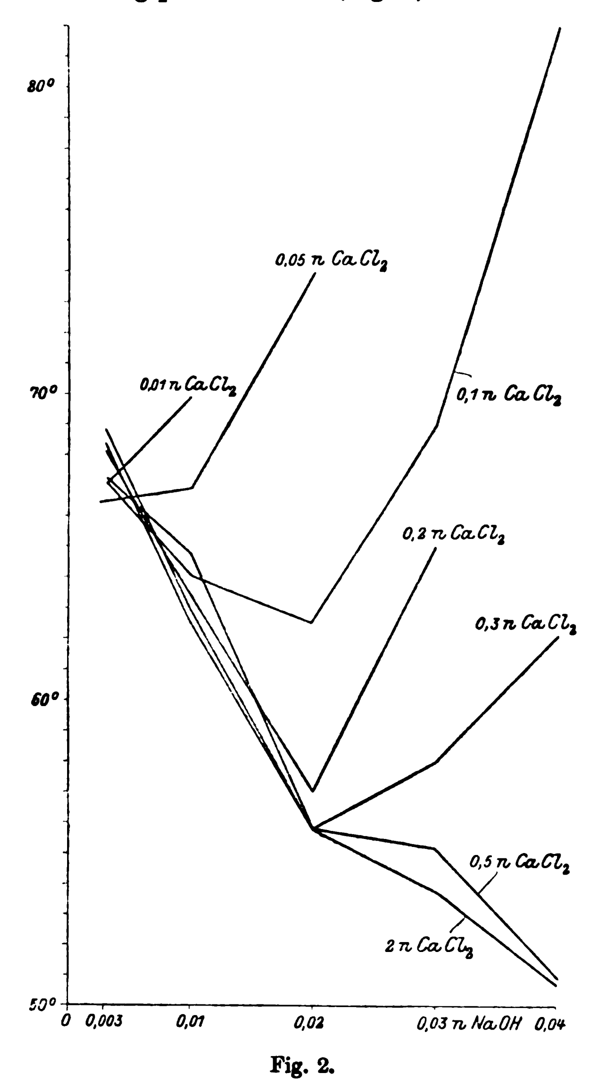


Fig. 2.

Bei einer Salzkonzentration über 3 n sinkt die Koagulationstemperatur sowohl mit wachsendem Laugen- als auch Salzgehalt, um in eine irreversible Fällung bei Zimmertemperatur überzugehen.

Zunächst bewirkt also Steigerung der Erdalkalikonzentration eine Vermehrung, Steigerung der Alkalinität eine Verminderung der hitzegerinnbaren Teilchen, bei weiterem Wachsen der zugesetzten Elektrolytmengen wirkt dann nur die Zunahme der Laugenkonzentration, und zwar im Sinne einer Vermehrung des hitzekoagulablen Eiweißanteiles, und erst bei den höchsten Salzkonzentrationen tritt eine neuerliche Wirksamkeit des Erdalkalizusatzes im Sinne einer Steigerung der Koagulierbarkeit auf.

Die Untersuchungen über die Hitzegerinnung von Laugeneiweiß unter dem Einflusse von zugefügtem Erdalkalisalz zeigen eine weitgehende Übereinstimmung mit den analogen früheren Versuchen am Säureeiweiß.[1]) Auch bei diesem fand sich der Antagonismus von Säure- und Salzwirkung in niederen Konzentrationen, die Konstanz des Gerinnungspunktes bei mittlerem Salzgehalt (l. c., Fig. 1) und die Zunahme der Gerinnbarkeit bei hohen Salz- und Säurekonzentrationen. Ebenso zeigte das Säureeiweiß schließlich alle Übergänge zur irreversiblen Fällung bei Zimmertemperatur (l. c., Fig. 2).

Auch darin besteht, wie die folgende Tabelle V zeigt, eine weitgehende Übereinstimmung von Säure-Salzfällung mit der irreversiblen Ausflockung von Laugeneiweiß durch Erdalkalien, daß diese sowohl mit wachsendem Salz- als auch Laugengehalt zunimmt.

Tabelle V.

Halbverdünntes Rinderserum, Fällungen nach 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur.

$CaCl_2$ in Substanz	NaOH 0,003 n	NaOH 0,005 n	NaOH 0,01 n	NaOH 0,03 n
4 n	—	—	—	+
5 n	—	—	±	++
6 n	±	+	±+	±++
7 n	++	±++	+++	+++
8 n	+++	+++	+++	+++

Zwischen der Zunahme der hitzekoagulablen Teilchen und dem schließlichen Auftreten spontaner Ausflockung bei niederer Temperatur bestehen auch beim Alkalieiweiß die innigen Beziehungen, die beim Säureeiweiß eingehend erörtert wurden.

[1]) Pauli, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 53, 1907.

Es ist in der Tat möglich gewesen, in Versuchen mit Herrn R. Wagner diesen allgemeinen Zusammenhang zu einer Theorie der Säure- und Laugenfällung von Proteinen auszubauen.

Durch das Studium der Hitzekoagulation hat sich gezeigt, daß die Salze mit Laugeneiweiß unter Änderung von dessen physikalisch-chemischen Eigenschaften direkt in Kombination treten und daß die Erdalkalisalze in dieser Hinsicht den Verbindungen der Alkalien bedeutend überlegen sind.

II.

Nach den experimentellen und theoretischen Versuchsergebnissen am Säureeiweiß lag es nahe, die beim Zusammenbringen von Laugeneiweiß und Salzen zutage tretenden Zustandsänderungen der Eiweißteilchen auf eine Umwandlung von ionischem — elektronegativen — in elektrisch neutrales Eiweiß zurückzuführen. Es war aber nicht nur der Beweis zu erbringen, daß Salzzusatz zu elektronegativem Protein eine Bildung elektrisch neutraler Partikel veranlaßt, sondern auch, daß Erdalkalisalze (ebenso wie Mg) zu einer weit größeren Vermehrung elektrisch neutraler Teilchen in einer Laugeneiweißlösung führen als Alkalisalze. Der Weg dieser Beweisaufnahme war bereits durch die früheren Untersuchungen vorgezeichnet.

Das schwach elektroaffine (Abegg und Bodländer) Eiweißion ist stark hydratisiert. Darauf weist schon die gewaltige Erhöhung der inneren Reibung hin, die das durch die Wanderung im elektrischen Felde angezeigte Auftreten elektrischer Eiweißteilchen bei Zusatz von Säure oder Alkali zu Proteinlösungen begleitet. Diese Reibungserhöhung kann als direktes Maß der Eiweißionenzahl dienen. Alkalieiweiß wird als Salz der schwachen Eiweißsäure stark hydrolytisch dissoziieren, wodurch die Bildung freier Eiweißionen gehemmt wird. Durch einen Überschuß von Lauge wird die hydrolytische Dissoziation zurückgedrängt und die Zahl der freien Eiweißionen vermehrt. Dem entspricht, wie die folgende Tabelle VI zeigt, ein Ansteigen der Viscosität (t/t_0) mit zunehmendem Gehalt an Natronlauge. Verwendet man das viel schwächere Ammoniumhydroxyd, so ist, entsprechend der weit bedeutenderen hydrolytischen Dissoziation, auch der Reibungsanstieg geringer.

Tabelle VI.

Rinderserum A, $t_0 = 629{,}5 \frac{\text{Sekunden}}{5}$.

Konzentration	Versuche mit NaOH		Versuche mit NH_4OH	
	$t\ ^1/_5''$	t/t_0	$t\ ^1/_5''$	t/t_0
0,00	692	1,097	692	1,097
0,01 n	741	1,177	703	1,118
0,02 n	796	1,260	705	1,120
0,03 n	851	1,352	707	1,123
0,05 n	—	—	710	1,128

Salzzusatz zu Alkalieiweiß bewirkt einen bedeutenden Abfall der inneren Reibung. Dieser Reibungsabfall folgt nun, wie der Vergleich der zwei als Beispiel angeführten Versuche in Tabelle VII ergibt, beim Laugen- und Säureeiweiß nach demselben Gesetz. Die Kurven der relativen Viscositätserniedrigung von NaOH- und HCl-Protein stimmen in ihrer Form vollständig überein. Niedrige Salzkonzentrationen wirken im Verhältnis ausgiebiger als hohe, und wie die graphische Verzeichnung der entsprechenden Logarithmenwerte ergab, gilt auch für die Salzbindung an Laugeneiweiß die Adsorptionsgleichung in analoger Weise wie beim Säureeiweiß.

Tabelle VII.

Rinderserum A mit NaOH bzw. HCl versetzt, dazu LiCl in wechselnden Konzentrationen, $t_0 = 695$.

Konzentration von LiCl	0,01 n-NaOH-Eiweiß		Prozentische Reibungsabnahme von NaOH-Eiweiß	0,009 n-HCl-Eiweiß		Prozentische Reibungsabnahme von HCl-Eiweiß
	$t\ ^1/_5''$	t/t_0		$t\ ^1/_5''$	t/t_0	
0,00	837	1,187	—	814	1,166	
0,005 n	818	1,172	1,27	—	—	
0,01 n	799	1,145	3,54	774	1,109	4,89
0,02 n	787	1,127	5,05	—	—	
0,04 n	780	1,117	5,89	762	1,092	6,35

Die am Säureeiweiß durch Alkalisalze hervorgebrachte Viscositätsabnahme ist weit ausgieber als beim Laugeneiweiß. In dem gleichen Sinne unterscheiden sich, wie oben erwähnt, die Veränderungen der Gerinnungstemperatur in den zwei Fällen.

In dem in Tabelle VII herausgegriffenen Versuchsbeispiel ist eine Laugenkonzentration höherer Eiweißreibung mit einem Säureeiweiß geringerer Viscosität verglichen. Während sonst die relative Abnahme der Viscosität durch Salzzusatz um so be-

deutender ist, je höher die ursprüngliche Reibung war, ist hier das Verhältnis umgekehrt, indem die schwächere innere Reibung des Säureproteins durch den gleichen Salzzusatz stärker erniedrigt wird als die des zäheren Laugeneiweißes.

In weit stärkerem Maße als die Alkalisalze vermögen die Salze der Erdalkalien die Reibung von Laugeneiweiß herabzusetzen: Zur Illustration dieses Unterschiedes in der Salzwirkung seien aus einer großen Versuchszahl im folgenden einige angeführt. Kationen, wie K und NH_4, die selbst die Viscosität von Wasser erniedrigen, sind nicht angewendet worden. Die Versuche zeigen zugleich, daß, ganz wie bei der Hitzekoagulation, gegenüber dem Effekte der Kationen die Variation der Anionen auch bei der Viscositätsherabsetzung von Laugenproteinen an Bedeutung verliert.

Tabelle VIII.

Salzgehalt überall 0,01 n, verschiedene Viscosimeter $t_0' = 695$, $t_0'' = 974$, $t_0''' = 698 \frac{\text{Sekunden}}{5}$.

Salz	Laugenkonzentration = 0,03 n-NaOH		Salz	0,025 n-NaOH	
	$t\ ^1/_5''$	t/t_0'		$t\ ^1/_5''$	t/t_0''
0,00	796,5	1,145	0,00	1208	1,293
NaCl	788	1,133	Na_2SO_4	1178	1,261
LiCl	773	1,111	$NaNO_3$	1181	1,265
			Salz	0,01 n-NaOH t/t_0'''	
$MgCl_2$	737	1,059	0,00	837	1,199
$CaCl_2$	727	1,045	LiCl	786	1,126
$BaCl_2$	730	1,050	$LiNO_3$	787	1,128
$SrCl_2$	731	1,051	$Ca(NO_3)_2$	764	1,095

Zusammengehalten mit den früheren Untersuchungen am Säureeiweiß können wir unsere Beobachtungen über die innere Reibung von Alkalieiweiß dahin formulieren, daß durch Zusatz von Salzen die Zahl der hydratisierten Teilchen im Alkalieiweiß vermindert wird und daß die Verbindungen der Erdalkalien (und des Mg) in dieser Hinsicht weit stärker wirken als die der Alkalimetalle.

Mit diesen Ergebnissen stehen die Beobachtungen über die Alkoholfällung von Kombinationen des Alkalieiweißes mit Salzen in bester Übereinstimmung. Die elektrisch geladenen, stark hydratisierten Eiweißteilchen werden durch Alkohol nicht

gefällt [Pauli[1]), Schorr[2]), Pauli und Handovsky[3])], wohl aber wird die Fällbarkeit durch Alkohol wieder hergestellt, sobald die Eiweißteilchen in wenig hydratisierte, ungeladene rückverwandelt werden.

Aus einer großen Zahl solcher vielfach variierten Versuche seien die folgenden angeführt. Unser 0,003 n-NaOH-Eiweiß wurde bei 44 °/₀ Alkoholgehalt noch nicht ausgeflockt. Die bei Salzzusatz zu 0,003 n-Laugeneiweiß durch 44 °/₀ Alkohol hervorgerufene Koagulation ist in der folgenden Tabelle IX registriert.

Tabelle IX.

Beobachtung nach 24 Stunden, 0,003 n-NaOH-Rinderserum.

Salz	KCl	NH_4Cl	$Ba(NO_3)_2$	$Ca(NO_3)_2$	$MgCl_2$
0,001 n	—	∓	++	++	++
0,002 n	±	∓	±±+	±±+	±±+
0,005 n	+	++	+++	+++	+++
0,01 n	++	±++	+++	+++	+++
0,05 n	±++	+++			
0,1 n	+++	+++			
0,2 n	+++				

Die Versuche zeigen in ausgezeichneter Weise, wie sehr die Erdalkalisalze (und Mg) in bezug auf die Herstellung der Alkoholfällung von Laugenprotein den Alkalisalzen überlegen sind. Eine Ausflockung, die von 0,1 n-KCl erzeugt wird, kann in derselben Stärke bereits durch 0,005 n-Erdalkali- oder Magnesiumsalz hervorgebracht werden. Auch hier ist Ammoniumsalz trotz der dadurch bewirkten bedeutenden Abnahme der Alkalinität von weit geringerem Einflusse als die Verbindungen der Erdalkalien.

Die Beobachtungen bei der Hitzegerinnung, Alkoholfällung und Viscositätsmessung weisen übereinstimmend darauf hin, daß durch Salzzusatz zu Laugeneiweiß eine Abnahme der hydratisierten Eiweißteilchen erfolgt. Nach unseren Studien am Säureeiweiß war es zugleich in hohem Grade wahrscheinlich, daß die Dehydratation der Eiweißteilchen mit ihrer Überführung aus dem elektrisch geladenen in den unelektrischen Zustand in Verbindung stehe. Daß dem wirklich so ist, konnte direkt mit Hilfe der Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit von Alkali-

[1]) Naturw. Rundschau 21, 1, 1906.

[2]) Vgl. Pauli, Kolloidzeitschr. 3, 1, 1908; oder Kolloidchemische Studien am Eiweiß. Dresden 1908.

[3]) Diese Zeitschr. 18, 340, 1909.

eiweiß-Salzmischungen dargetan werden. Stets war, wie die folgenden Versuche zeigen, die Leitfähigkeit der Kombination Laugeneiweiß und Salz (K_s) wesentlich geringer als die unter der Annahme berechnete (K_s'), daß kein Umsatz von ionischem in elektrisch neutrales Eiweiß erfolge.

Aus der Versuchsreihe in Tabelle X geht hervor: 1. Die relative Abnahme der Leitfähigkeit von Alkalieiweiß durch Salzzusatz (K_s'—K_s); 2. die Unabhängigkeit dieser Abnahme vom gewählten Anion (in Versuch b und c sind die K_s'—K_s gleich); 3. das (auch aus dem Verhalten bei der Dialyse ersichtliche) Bestehen eines reversiblen Gleichgewichtes zwischen Laugeneiweiß und Salz, da es gleichgültig ist, ob NaOH-Protein und KCl oder KOH-Protein und NaCl kombiniert werden. (Vers. a und c.)

Tabelle X.

Rinderserum A, Thermostat 25° C, schwach geglühte Platinschwarzelektroden.

a) RS A + 0,01 n-NaOH + KCl

Salzkonzentration	K des Salzes in Wasser	K_s' berechnet	K_s beobachtet	K_s'—K_s
			0,0009848	
0,01 n	0,001415	0,0023998	0,0022395	0,0001603
0,03 n	0,004098	0,0050828	0,004738	0,0003448
b) RS A + 0,01 n-KOH + $NaNO_3$				
			0,0011564	
0,01 n	0,0011246	0,0022810	0,0021116	0,0001694
0,03 n	0,0032624	0,0044188	0,0040773	0,0003415
c) RS A + 0,01 n-KOH + NaCl				
			0,0011564	
0,01 n	0,0011897	0,0023361	0,0021680	0,0001681
0,03 n	0,0034151	0,0045715	0,0042275	0,0003446

Daß es sich in diesen Versuchen nicht nur um die von A. Dumanski[1]) studierte Herabsetzung der elektrischen Leitfähigkeit durch die Querschnittsverminderung des Elektrolyten infolge der kolloiden Eiweißteilchen handeln kann, ergibt sich aus dem Vergleiche mit der Leitfähigkeitsabnahme jener Salzlösung durch Eiweiß. So betrug K_s'—K_s für reines Eiweiß und 0,03 n-$NaNO_3$ nur 0,000102, dagegen für Alkalieiweiß mehr als das 3fache = 0,0003415.

Schließlich konnte auf ähnlichem Wege festgestellt werden, daß der Zusatz von Erdalkalisalz [$Ca(NO_3)_2$] zu Laugen-

[1]) Zeitschr. f. physik. Chem. 60, 553.

eiweiß eine weit stärkere Herabsetzung der Leitfähigkeit, also bedeutendere Vermehrung elektrisch neutraler auf Kosten ionischer Teilchen verursacht, als die Zugabe von Alkalisalz. So ist (Tabelle XI) die Differenz zwischen berechneter und beobachteter Leitfähigkeit (K_s'—K_s) bei Verwendung von 0,0025 n-Kaliumchlorid 0,0000194, dagegen bei der gleichen Calciumnitratmenge 0,0001162, also etwa das 6fache. Mischung von 0,0025 n-$Ca(NO_3)_2$ mit reiner 0,003 n-NaOH bringt keine Änderung der Leitfähigkeit, also keine Änderung der OH-Ionenkonzentration hervor (Tabelle XIa; K'—K liegt innerhalb der Versuchsfehler).

Tabelle XI.

Rinderserum B nach Dialyse bei Zimmertemperatur noch durch 14 Tage gegen 12stündig gewechseltes, ständig auf 35° C gehaltenes destilliertes Wasser dialysiert.

a) Rinderserumfreie Mischung.

Konzentration von $Ca(NO_3)_2$	K von 0,003 n-NaOH + $Ca(NO_3)_2$		
	K' berechnet	K beobachtet	K'—K
0,00		0,0006578	
0,0025 n	0,0009670	0,0009652	0,0000018
0,025 n	0,0033178	0,0030904	0,0002274

b) Rinderserumhaltige Mischung.

Konzentration von $Ca(NO_3)_2$	K von 0,003 n-NaOH + $Ca(NO_3)_2$ + RS B.		
	K_s' berechnet	K_s beobachtet	K_s'—K_s
0,00		0,0002192	
0,0025 n	0,0005284	0,0004122	0,0001162
0,025 n	0,002879	0,002514	0,000365

Konzentration von KCl	K von 0,003 n-NaOH + KCl + RS B.		
	K_s' berechnet	K_s beobachtet	K_s'—K_s
0,0025 n	0,0005824	0,0005630	0,0000194
0,025 n	0,0036433	0,0035405	0,0001028

Daß durch einen Überschuß an Ca-Ionen [0,025 n-$Ca(NO_3)_2$] eine Herabsetzung der Dissoziation des entstehenden Calciumhydroxyds erfolgt, gilt in gleicher Weise für den Zusatz von 0,025 n-KCl und die gebildete KOH.

Bringt man diese Wirkung des gemeinschaftlichen Ions in Anschlag, so zeigen niedere und höhere Salzkonzentrationen in gleicher Weise den bedeutenden Unterschied in der Beeinflussung von Laugeneiweiß durch Alkali- und Erdalkaliverbindungen.

Die Messungen der elektrischen Leitfähigkeit haben demnach ergeben, daß in gleicher Weise wie beim Säureeiweiß die Wirkung des Salzzusatzes beim Laugenprotein auf einer Vermehrung der elektrisch neutralen Eiweißteilchen beruht, denen somit die Verminderung der Viscosität und die Herstellung der Koagulierbarkeit durch Hitze und Alkohol zuzuschreiben ist. Die Überlegenheit der Erdalkalisalze über die Alkaliverbindungen in der Bewirkung dieser Zustandsänderungen beruht auf einer bedeutend ausgiebigeren Bildung von elektrisch neutralen Teilchen aus elektronegativem Eiweiß.

III.

Die Resultate der obigen physikalisch-chemischen Untersuchungen gestatten auch den Versuch, zu einer mehr chemischen Vorstellung der Wechselbeziehung von Laugeneiweiß[1]) und Neutralsalz vorzudringen.

Durch die Reaktion des cyclischen Salzes $R\langle{NH_3 \atop COO}$ (mit Bindung NH$_3$—COO) einer einfachen Aminosäure, dem eine analoge Form des neutralen Eiweißes entsprechen wird, mit den Ionen des Wassers werden, wie dies schon in der letzten Mitteilung ausgeführt worden ist, Teilchen nach dem Schema $R\langle{N(=H_2)\langle{H \atop OH} \atop COOH'}$ gebildet, die mit Säure unter Entstehung der positiven Ionen $R\langle{NH_3^{\cdot} \atop COOH}$ und mit Lauge der negativen Ionen $R\langle{N(=H_2)\langle{H \atop OH} \atop COO}$, reagieren werden.

[1]) Besondere Untersuchungen an organischen Basen und amphoteren Elektrolyten kombiniert mit Eiweiß wird die nächste, bereits druckfertige Mitteilung des einen von uns (H.) bringen.

Im elektronegativen Eiweiß erscheint also der Wasserstoff der Carboxylgruppe durch ein Metallion[1]) ersetzt, so daß z. B. mit NaOH das neutrale Molekül

$$R\begin{cases} \overset{H_2}{\overset{\|}{N}}\begin{cases} H \\ OH \end{cases} \\ COONa \end{cases}$$

neben den freien Ionen gebildet wird.

Für die Reaktion mit einem Neutralsalz stehen zur Substitution das H und OH am Stickstoff zur Verfügung, so daß beide Salzionen eintreten können, z. B.

$$R\begin{cases} \overset{H_2}{\overset{\|}{N}}\begin{cases} K \\ Cl \end{cases} \\ COONa \end{cases}$$

bei Zugabe von Kaliumchlorid. Beim Säureeiweiß ist das Hydroxylion am Stickstoff schon substituiert, und Salzzusatz kann nur den Eintritt eines Metallions, nicht aber eines weiteren Anions nach sich ziehen, wobei, wie wir wahrscheinlich gemacht haben, der Wasserstoff der Carboxylgruppe unter Freimachung von H-Ionen gegen ein Metallion ausgetauscht wird.

Würde beim Laugeneiweiß nur das Anion eines zugesetzten Salzes eintreten, so müßte das Kation mit dem freigesetzten OH der Aminogruppe unter Bildung eines stark dissoziierten Hydroxyds reagieren, zugleich aber wäre der entstehende Eiweißkomplex der gleiche, ob man nun Säure- oder Laugenprotein mit Neutralsalz reagieren läßt. Es gelang jedoch nicht, mit passend gewählten Indicatoren (Phenolphthalein, Hämatein, Tropäolin 000, Methylgrün) unter allen Kautelen irgendeine Reaktionsänderung in einer Laugeneiweißlösung durch Neutralsalzzugabe nachzuweisen. Ebenso sprechen trotz mancher gemeinsamer Züge gewisse Verschiedenheiten in den Zustandsänderungen, z. B. die Abhängigkeit von der Natur der Ionen zugesetzter Elektrolyte, dafür, daß eine Identität der im Alkali- und Säureeiweiß durch Salzzusatz gebildeten Komplexe nicht vorliegt. Die Reaktion von Salz (etwa KCl)

[1]) Es ist unverständlich, warum Hardy (l. c.) bei ähnlichen Betrachtungen über das Globulin das positive Metallion an Stelle von OH in die Carboxylgruppe treten läßt, wie dies stets sowohl im Worttexte als auch in den Reaktionsgleichungen angegeben ist.

mit Laugen- (NaOH-) Protein wird sich also durch die schematische Gleichung darstellen lassen:

$$R\begin{array}{l}\diagup NH_2\begin{array}{l}\diagup H\\ \diagdown OH\end{array}\\ \diagdown COONa\end{array} + KCl \rightleftarrows R\begin{array}{l}\diagup \overset{\overset{H_2}{\|}}{N}\begin{array}{l}\diagup K\\ \diagdown Cl\end{array}\\ \diagdown COONa\end{array} + H_2O \quad . \; . \quad I$$

Da ein Unterschied in der Stärke von KOH und NaOH nicht besteht und die Reaktion I reversibel ist, so werden nahezu ebenso viele Teilchen $R\begin{array}{l}\diagup \overset{\overset{H_2}{\|}}{N}\begin{array}{l}\diagup K\\ \diagdown Cl\end{array}\\ \diagdown COONa\end{array}$ neben $R\begin{array}{l}\diagup \overset{\overset{H_2}{\|}}{N}\begin{array}{l}\diagup Na\\ \diagdown Cl\end{array}\\ \diagdown COOK\end{array}$ vorhanden sein. Nach dem Massenwirkungsgesetz muß Überschuß an Neutralsalz die Reaktionsverschiebung von links nach rechts, also die Salzbindung, Verdünnung die Umwandlung von rechts nach links begünstigen. Es steht nichts im Wege, den Vorgang als Bildung eines komplexen Salzes anzusehen, dem nach den experimentellen Ergebnissen eine wesentlich schwächere Ionisation zugeschrieben werden muß als dem einfachen Eiweißsalz. Die vermehrte Bildung elektrisch neutraler Moleküle scheint hier in ähnlicher Weise dem Verständnis zugänglich, wie bei der Kombination Säureprotein und Neutralsalz. In diesem Falle lag die Annahme nahe, daß durch den Eintritt eines starken Metallions in die Carboxylgruppe eine Gegenwirkung gegen die Dissoziation des Säureions hergestellt wird, die zur elektrischen Neutralisierung des Komplexes führt. Beim Alkalieiweiß würde der Eintritt des Anions eines zugesetzten Salzes ebenso die Ionisierungstendenz (hier des Metallions) kompensieren, nur gelangt hier zugleich an Stelle eines H am Stickstoff das starke Metallion des zugesetzten Salzes, das positivierend wirkt und die Verhältnisse der Ionisation und hydrolytischen Dissoziation ändert. Diese Änderung erfolgt, wie die Beobachtungen lehren, in dem Sinne, daß die etwa bei NaOH-Protein und KCl gebildeten Teilchen vom Typus $R\begin{array}{l}\diagup NH_2 \,.\, KCl\\ \diagdown COONa\end{array}$ weniger elektrisch neutrale Moleküle entstehen lassen als die beispielsweise bei der Reaktion von Salzsäureprotein mit einem Natriumsalz resultierende Verbindung von der Form

$R\begin{matrix}\diagup NH_2Cl \\ \diagdown COONa\end{matrix}$. Denn der Vergleich der korrespondierenden Versuche am Säureeiweiß mit denen am Laugenprotein zeigt, daß bei ersterem durch Zugabe von Alkalisalzen eine weit vollständigere Hitze- und Alkoholkoagulation sowie eine bedeutendere Abnahme der inneren Reibung und elektrischen Leitfähigkeit zu erzielen ist als bei letzterem.

Einer besonderen Betrachtung bedürfen noch die Verhältnisse bei den Verbindungen von Erdalkalien und Magnesium. Aus den Versuchen geht hervor, daß die Verbindung von unserem Laugenprotein mit Erdalkalisalzen zur Bildung von Komplexen weit schwächerer Ionisation führt als die mit den Salzen der Alkalimetalle. Es war nun festzustellen, ob dieses Verhalten mit dem Eintritte des Erdalkaliions in die Carboxylgruppe oder mit seiner Bindung an den Stickstoff des Aminoradikals zusammenhängt. Ein aufklärender Hinweis in dieser Frage war von der Prüfung der Ionisation von Laugeneiweiß zu erwarten, das einmal mit Alkali, ein anderes Mal mit Erdalkalihydroxyd gewonnen wurde. Die Ionisation solcher Laugenproteine konnte nach der Größe ihrer hydrolytischen Dissoziation beurteilt werden.

Aus der Hydrolysengleichung $K_0 = \frac{K_{Salz} \cdot K_{H_2O}}{K_{Säure} \cdot K_{Base}}$ ergibt sich, daß die Hydrolyse eines Salzes bei gleicher Temperatur und Verdünnung um so stärker ist, je mehr das Salz ionisiert und je schwächer die aus demselben entstehende Säure oder Base ist. Für unsere Laugeneiweiße ist $K_{Säure}$, die Säuredissoziationskonstante von Eiweiß konstant und K_{Base} für die von uns verwendeten Konzentrationen (0,005 n-NaOH und $Ba(OH)_2$) nicht sehr[1]) verschieden. Unter diesen Umständen wird die Hydrolyse in erster Reihe von der Ionisation des Laugenproteins abhängen und konnte auf folgende Weise bestimmt werden.

Unser gereinigtes Eiweiß reagiert mit Phenolphthalein als Säure. Titriert man eine Portion einer starken Lauge mittels

[1]) Der geringe Unterschied zu ungunsten des Baryts sollte im Sinne einer Steigerung der Hydrolyse von Bariumeiweiß wirken. Das Ergebnis des Versuchs fällt im entgegengesetzten Sinne aus, ist also a f beweisend.

der Eiweißlösung, so wird es infolge der starken Hydrolyse des gebildeten Laugenproteins nicht zu einem scharfen Farbenumschlag, sondern zu einer allmählichen Abnahme der Rötung kommen. Erst bei einem gewissen Überschuß von Eiweiß wird die Hydrolyse so weit zurückgedrängt, daß die Lösung farblos erscheint. Bei sorgfältigem Arbeiten, Verwendung genau gleicher Indicatormengen und Titration auf den Farbenton einer entfärbten Vergleichsprobe konnte mit unserem Serum B die zum Farbenumschlag erforderliche Eiweißmenge auf ± 0,1 ccm festgestellt werden. War das Natroneiweiß stärker ionisiert und demgemäß mehr hydrolytisch dissoziiert als Baryteiweiß, dann mußte auch bei ersterem mehr Eiweiß zu der durch die Entfärbung von Phenolphthalein angezeigten Zurückdrängung der Hydrolyse verbraucht werden. Dieser theoretisch vorhergesehene Unterschied fand sich im Versuche ausnahmslos bestätigt. So bedurften 10 ccm einer 0,005 n-Natronlauge 13,3 ccm Serum B, 15 ccm derselben Lauge 17,8 ccm der Eiweißlösung, während die gleichen Mengen von 0,005 n-Ätzbaryt 12,2 und 16,7 ccm von unserem Eiweiß zum Farbenumschlag erforderten.

Nach dem Ausfalle dieses Versuchs[1]) ist es in hohem Maße wahrscheinlich, daß auch bei der Reaktion von Alkalieiweiß mit Erdalkalisalzen die Bildung schwach ionisierter Komplexe durch den Eintritt des Erdalkaliions in das Carboxyl unter Verdrängung von Alkaliionen aus der Carboxyl- an die Aminogruppe erfolgt etwa nach dem Schema:

$$R\begin{cases}COONa \\ N{\begin{matrix}H \\ OH\end{matrix}} \\ \| \\ H_2\end{cases} + \frac{Ca}{2}NO_3 \rightleftarrows R\begin{cases}COO.\frac{Ca}{2} \\ N{\begin{matrix}Na \\ NO_3\end{matrix}} \\ \| \\ H_2\end{cases} + H_2O$$

IV.

Den Beziehungen von Alkali- und Erdalkalisalzen zu elektronegativem Eiweiß dürfte auch eine nicht geringe physiologische Bedeutung zukommen. Daß in tierischen Säften und Geweben elektronegatives Eiweiß zugleich mit Neutralsalzen sich vorfindet, ist unzweifelhaft, und ebenso geht aus vielfältigen

[1]) Ein Beweis auf anderem Wege wird in der Abhandlung von Schorr veröffentlicht werden.

physiologischen und toxikologischen Erfahrungen hervor, daß reversible Ionenwirkungen, also Aufnahme und Abgabe oder wechselseitige Verdrängung von Ionen in den Zellen stattfinden. Die eigenartigen Bindungsverhältnisse von Alkali- und Erdalkalisalzen mit elektronegativem Eiweiß führen nun zu Konsequenzen, die einige merkwürdige physiologische Erfahrungen in neuer Beleuchtung erscheinen lassen.

Lassen wir etwa eine Salzmischung von äquivalenten Mengen Erdalkali- und Alkalimetallionen mit elektronegativem (Laugen-) Eiweiß in Reaktion treten, so werden infolge der Begünstigung aller Reaktionen, die die Zahl freier, insbesondere schwach elektroaffiner Ionen vermindern, vorwiegend Erdalkaliionen in die Carboxylgruppe des Proteins eintreten. Um das stärker dissoziierende Alkaliion in dieser Gruppe festzuhalten, wird ein bedeutender Überschuß von Alkaliionen über die Erdalkaliionen in der Lösung vorhanden sein müssen. Es besteht also ein Antagonismus zwischen Erdalkali- und Alkaliionen hinsichtlich einer bestimmten Bindung an Eiweiß, wobei kleine Mengen der ersteren nur durch relativ große der letzteren kompensiert werden. Ähnliche Verhältnisse hat zuerst J. Loeb[1]) in seinen bekannten Untersuchungen über Ionenwirkungen an einer großen Zahl von physiologischen Objekten nachgewiesen und die Möglichkeit eines allgemeinen Antagonismus in der Wirkung ein- und mehrwertiger Ionen betont. Die Allgemeinheit dieser Auffassung wird durch das Vorkommen spezifischer Ionenwirkungen, wie sie beispielsweise bei K, Mg, Ba für die Muskelfunktion bestehen [vgl. Overton[2])], eingeschränkt. Sieht man jedoch von den konstitutiven Einflüssen bei Ionenwirkungen ab, die gewiß auch in der komplexen Struktur und den verschiedenen Angriffsmöglichkeiten in der lebendigen Substanz ihre Begründung finden, so bleiben von den grundlegenden Beobachtungen Loebs genug übrig, bei denen unverkennbare Analogien zu unseren Feststellungen am elektronegativen Eiweiß hervortreten.

Neben der schon betonten Reversibilität der Ionenwirkungen findet sich ganz allgemein die Kompensation der physiologischen

[1]) Vgl. J. Loeb, Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen, S. 112ff. Leipzig 1906.

[2]) E. Overton, Pflügers Archiv 105, 176, 1904.

Wirkung größerer Mengen gewisser einwertiger Ionen (Na, Li) durch kleine Mengen von Ca-Ionen und umgekehrt. Ferner bestehen solche direkten physiologischen Beziehungen wie im Reagensglasversuche am elektronegativen Eiweiß nur für Metallionen, nicht für Anionen. Eine interessante, bisher gar nicht aufgeklärte Analogie ist aber die folgende. Bei einer Reihe von Versuchen mit Salzlösungen, z. B. am Froschmuskel, am isolierten Muskelzentrum der Medusa Polyorchis, zeigte sich, daß die Wirkung von Ca-vermindernden Maßnahmen durch Säuerung ersetzt werden konnte, während umgekehrt Alkalizugabe zur Lösung wie eine Steigerung des Gehaltes an Ca-Ionen wirkte. Dieses Verhalten ergibt sich als eine Notwendigkeit, wenn man es auf die Unterschiede in der Salzionenbindung durch elektronegatives und positives Eiweiß bezieht. Denn die verstärkte Bindungsfähigkeit für Erdalkaliionen im Vergleiche mit Alkalimetallionen gilt nur für das elektronegative Eiweiß, während für elektropositives eine ganz geringe Verschiedenheit in der Bindung dieser Metallionen besteht. Vermindert man durch Säurezusatz zu einem elektronegativen Eiweiß, das in einer Lösung von Alkali- und Erdalkalisalz enthalten ist, die Zahl der elektronegativen Eiweißteilchen oder macht man schließlich durch genügende Säurezugabe das Eiweiß elektropositiv, so wird die Bindung von Erdalkali- (und Mg-) Ionen zugunsten der Alkaliionen herabgesetzt, und ebenso wird das Verhältnis der gebundenen Metallionen umgekehrt, sobald durch Zufügen von Lauge die Zahl der elektronegativen Eiweißpartikel erhöht wird. Mit der Kenntnis dieser Salzionenbeziehungen zum Eiweiß verliert auch die Erscheinung alles Befremdliche, daß z. B. calciumfällende Salze, wie Oxalate oder Citrate, in den von Loeb gewählten Versuchsbedingungen physiologisch im gleichem Sinne wirken wie geringer Säurezusatz.

Man wird ferner kaum fehl gehen, bei der Analyse der auffallenden Wirkung von Erdalkaliionen auf die Muskelkontraktion auch die charakteristischen Zustandsänderungen von elektronegativem Eiweiß durch diese Ionen in Betracht zu ziehen, die alle im Sinne der Aggregation der Proteinteilchen liegen. Wie weit hier die vor Jahren schon von dem einen von uns betonte Vorstellung eines Parallelismus kolloidaler und funktioneller Änderungen die Forschung anregen kann, zeigten erst kürzlich die hoch-

interessanten Beobachtungen von Fürth und Schwarz[1]) über den Zusammenhang von Muskeleiweißgerinnung und Steigerung der Muskelarbeit durch eine Reihe von Substanzen.

Unsere Beobachtungen leiten aber auch auf eine in gewissem Sinne spezifische Funktion der Erdalkaliionen, physiologischerweise in erster Linie des Calciums, bei der Regulierung des Wassergehaltes der Gewebe hin. Mit der elektrischen Ladung ist eine starke Hydratation der Proteine verbunden, die durch Neutralsalze schon in niedrigen Konzentrationen wieder verringert werden kann. Nach unseren Beobachtungen müssen ganz besonders Erdalkalisalze zur Dehydratation von negativem Eiweiß führen, und es kann bei der Ausgiebigkeit dieses Effektes keinem Zweifel unterliegen, daß ihnen in dieser Richtung für die Viscosität der tierischen Säfte und den Turgor der Zellen und Gewebe eine ganz besondere Rolle zufällt, in der sich wohl, sofern dies nicht andere Wirkungen ausschließen, verschiedene Ionen vertreten können, die aber insoweit spezifisch erscheint, als der Kreis dieser Ionen beschränkt ist.

Um diese Wirkung zu demonstrieren, wurden noch einige Entquellungsversuche von Laugenprotein (Leim) durch Salzzusatz vorgenommen, da das in der Literatur über diese Verhältnisse vorliegende Material teils, anscheinend infolge ungeeigneter Versuchsbedingungen, negativ [Procter[2]), am Leim], teils unvollständig ist [M. H. Fischer[3]), Fibrin mit Lauge und Alkalisalzen].

Aus einer durch 8 wöchentliches Einhängen in fließendes destilliertes Wasser bis fast zur Leitfähigkeit destillierten Wassers gereinigten Gelatine von 3,77 % Gelatinegehalt (durch Trocknen bei 110° C bestimmt) werden nach Ausgießen auf eine Glasplatte kleine Scheibchen gestanzt und in Wägegläschen gewogen. Darauf werden die Scheibchen aus den Wägegläschen in gut verschließbare Pulvergläser mit je 100 ccm der betreffenden Lösung eingebracht und 24 Stunden der Quellung überlassen. Darauf werden sie herausgenommen, und es wird wieder in den zugehörigen Wägegläschen nach vorheriger Befreiung von anhängender Flüssigkeit mittels Filtrierpapiers ihr Gewicht bestimmt. Bei der hochgradigen Verdünnung der verwendeten Elektrolyte konnte von dem aufgenommenen Gewichte

---

[1]) Pflügers Archiv 129, 525, 1909.

[2]) Nur im Referate zugänglich. British association for the advancement of science 1908; ref. Kolloidzeitschr. 3, 307.

[3]) M. H. Fischer und G. Moore, Kolloidzeitschr. 5, 197.

derselben abgesehen und die Gewichtsänderung auf das eingedrungene Wasser bezogen werden.

Tabelle XII.

Zusammensetzung der Lösung	Gewicht d. Gelatine vor dem Versuch g	Gewicht d. trockenen Gelatine g	Absolute Wasser-aufnahme g	Von 1 g trockener Gelatine aufgenommene Wassermenge g
H_2O	0,600047	0,02262	0,001538	0,0680
0,0025 n-NaOH	0,519744	0,01957	1,501763	76,7380
0,0025 n- „ + 0,0025 n-$BaCl_2$	0,676127	0,02548	1,028278	40,3563
0,0025 n- „ + 0,0025 n-KCl	0,562136	0,02119	1,228385	57,9693
0 + 0,0025 n-$BaCl_2$	0,615372	0,02319	0,067322	2,9031
0 + 0,0025 n-KCl	0,567271	0,02138	0,044800	2,0997

In diesen Versuchen zeigt sich neben der von Spiro[1]) und Wo. Ostwald[2]) zuerst beschriebenen gewaltigen Quellung von Leim in Lauge die bedeutende Verminderung dieser Quellung durch Salzzusatz. Für Alkalisalze wurde eine solche Verminderung der Quellung von Laugenfibrin in der allerjüngsten Zeit von M. H. Fischer und G. Moore[3]) ohne Theorie dieser Erscheinung beschrieben.

Aus unseren Versuchen ergibt sich zugleich die vorhergesehene Überlegenheit von Erdalkali- über Alkalisalz bei der Entquellung von Laugenglutin. Durch Bariumchlorid erfolgt eine Verminderung der Quellung von Laugenleim um 46,10°/₀, durch Kaliumchlorid nur um 24,46°/₀.

Zugleich läßt sich die Mächtigkeit der durch die Zustandsänderungen von Biokolloiden erzeugten Wasserverschiebungen erkennen, neben denen die Wirkung osmotischer Druckveränderungen infolge der zugesetzten geringen Elektrolytenmenge völlig zurücktritt.

Es ist nicht zu bezweifeln, daß sich ein gleiches Verhalten wie am Leim auch an Organen und Organteilen erweisen ließe, wie dies ja für die Einwirkung von reinen Säuren oder Laugen auf Muskeln [J. Loeb[4])], Blutkörperchen [Hamburger[5])],

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 276, 1904.
[2]) Pflügers Archiv 108, 563, 1905.
[3]) Kolloidzeitschr. 5, 197, 1909.
[4]) Pflügers Archiv 75, 303, 1899.
[5]) Vgl. Osmotischer Druck und Ionenlehre usw. Wiesbaden 1902.

isolierte Augen [M. H. Fischer[1])] bereits geschehen ist. Fischer hat, wie dies schon in unserer letzten Mitteilung hervorgehoben wurde, als erster die hemmende Wirkung von Elektrolyten auf die Säure- und Laugenquellung von isolierten Augen studiert, allerdings bei der letzteren keine vergleichenden Versuche mit Alkali- und Erdalkalisalzen mitgeteilt. Für ein einwandfreies Ergebnis solcher Bestimmungen wird eine passende Wahl der Konzentrationen erforderlich sein, die eine wechselseitige Ionisationsbeeinflussung der Elektrolyte ausschließt.

* * *

Die hier und in den früheren Mitteilungen dargelegten Beziehungen von Säure- und Laugenproteinen zu Salzen stehen somit in innigem, noch weiter auszubauendem Zusammenhang mit zahlreichen physiologischen und experimentellen Beobachtungen an lebendem Material. In allen diesen Fällen stehen die Veränderungen von Eiweiß bei seinem Übergange aus den elektrisch geladenen in den unelektrischen Zustand im Vordergrunde, von denen die Hydratation und Dehydratation der Eiweißteilchen nur die auffälligsten sein dürften. Nach neueren Versuchen am Institute sind diese von, je nach den Umständen reversiblen oder irreversiblen Umlagerungen im Eiweiß begleitet, woraus sich eine Fülle weiterer Gesichtspunkte ergeben hat.

[1]) Pflügers Archiv 125, 396, 1908; ibid. 127, 1, 1909.

Über die chemische Zusammensetzung der Feige (Ficus carica).

Von

Raffaele Paladino.

(Aus dem chemisch-physiologischen Institut der Universität zu Neapel.)

(Eingegangen am 23. Januar 1910.)

Es ist allgemein bekannt, welche hervorragende Stellung die Frucht des Feigenbaumes unter den verschiedenen Bodenerzeugnissen Italiens einnimmt. Wegen der großen Mengen Zucker- und Eiweißstoffe, die die Feige enthält, hat sie namentlich für die unteren Bevölkerungsklassen Süditaliens eine hohe physiologische und wirtschaftliche Bedeutung.

Die genaue chemische Zusammensetzung der Feige ist kaum festgestellt;[1]) die vorliegenden Untersuchungen erstreckten sich bisher nur auf einzelne Bestandteile der getrockneten Frucht. Es schien mir daher angebracht, die frischen wie die getrockneten Feigen qualitativ und quantitativ chemisch zu untersuchen. Die Prüfung betraf hauptsächlich die Bestandteile und die Verhältnisse derselben in dem Fleische und der Schale der frischen wie der getrockneten Feigen. Das Verfahren war folgendes:

400 g frische Feigen (sog. Fichi troiani, Ficus carica) und dieselbe Menge getrocknete Feigen (aus der Gegend des Cilento in den Abruzzen) wurden genau abgewogen, nach Entfernung der Stiele in kleine Stücke zerschnitten und wiederholt mit warmem Äther ausgezogen, um zuerst die Fettbestandteile abzuscheiden, bis der Äther farblos blieb und bei Verdampfung keinen nennenswerten Rückstand mehr ergab. In dem so erhaltenen fettfreien Rückstand schritt ich einesteils zur Bestimmung des Stickstoffs, anderenteils zog ich mit Alkohol aus, um alle Zuckerstoffe abzuscheiden und möglichst verschiedene Sorten derselben zu unterscheiden. Der dabei verwendete Alkohol war 97 %ig und wurde jedesmal zum Sieden erhitzt. Die ersten Alkoholauszüge waren dunkelgelb, bei den nachfolgenden Behandlungen wurden sie allmählich heller, bis sie zuletzt bei negativer Probe auf Zucker ganz farblos wurden. Nachdem

[1]) P. Malerba, Über die Eiweißstoffe der Feigen. Vortr. an der königl. Akad., 1881, S. 73. — M. Balland und Bley, Über die Zusammensetzung der Feigen. Aus d. chem. Enzykl. des Selmi.

auf diese Weise die Zuckerstoffe herausgelöst waren, schritt ich zur Entfernung der Eiweißstoffe durch Behandlung mit genügend konzentrierter Kalilauge, in der der von Fett und Zucker befreite Rückstand mehrere Tage unter öfterem Umschütteln belassen wurde. Ich dekantierte oder filtrierte während der folgenden Tage und fügte hierauf wieder Kalilauge hinzu. Ich bemerkte nun, daß die anfangs orangegelbe Farbe der Kalilauge sich mit der Zeit verlor, bis sie blaßgelb wurde. Der Rückstand mußte die Cellulose (Rohfaser) darstellen und konnte nach weiterer Behandlung getrocknet und dann gewogen werden. Die alkoholische Lösung, welche die Zuckerstoffe in gelöstem Zustande enthielt, überließ ich der freiwilligen Verdunstung. Die Flüssigkeit war anfangs gewöhnlich sehr zäh, von intensiver Färbung und starkem, angenehmem Geruch. Diese dickflüssige, zuckerhaltige Masse wurde zur Entfernung des größeren Teils des Alkohols der Destillation und dann der Verdampfung auf dem Wasserbade unterworfen, worauf die neuerdings erhaltene Masse zur Abkühlung auf längere Zeit in Eis gestellt wurde. Die so erhaltene Zuckermasse hatte ganz das Aussehen von Glucose, aus der der Feigenzucker besteht; durch Behandlung mit Tierkohle gelang seine Reinigung und Charakterisierung.

Die Verarbeitung der Kalilaugenlösung ergab die darin gelösten Eiweißstoffe. Ich verweise hier auf die von P. Malerba (l. c.) vor mehreren Jahren mit den Eiweißstoffen der Feigen angestellten Untersuchungen, die eine genauere Prüfung überflüssig machten. Meine eigenen Untersuchungen führten mich zur Entdeckung zweier Körper in der Kalilauge; einer derselben fiel durch Essigsäure aus, der andere mit reinem Alkohol. Der mit Essigsäure erhaltene Niederschlag ist weiß, er löst sich teilweise in einem Überschuß der Fällungsmittel, und man erhält ihn reichlicher mit wenig Essigsäure und unter Erwärmung. Wenn man den Niederschlag abfiltriert und das Filtrat mit reinem Alkohol reichlich versetzt, so fällt der andere, ebenfalls weiße Körper aus und sammelt sich auf dem Boden des Gefäßes. Mit diesem durch Alkohol erhaltenen Niederschlag konnte ich keine Eiweißreaktion erhalten. Es scheint dies ein besonderer, noch näher zu erforschender Körper zu sein. Mit Salzsäure und Salpetersäure gibt die Kalilaugenlösung keinen Niederschlag, ja nicht einmal die den Eiweißstoffen charakteristische Färbung.

Man zerquetscht einige Feigen in Wasser, filtriert und entfernt aus der filtrierten Flüssigkeit die Gallerte, die sich im Zeitraum von 24 Stunden gebildet hat; die rosafarbene, vom Gerinnsel getrennte Flüssigkeit ergibt die meisten Eiweißreaktionen; aus ihr fällt reiner Alkohol, eine Substanz von eigenartigem Aussehen, die farblos und so leicht ist, daß sie auf der Flüssigkeit schwimmt. Diese Substanz löst sich im Wasser, besonders in warmem, ferner in Salzsäure, Salpetersäure und Essigsäure;[1]) Schwefelsäure gibt ihr eine schwärzliche Färbung; ihre wässerige Lösung wird durch Schwefelsäure sowie Bleiacetat gefällt.

---

[1]) Sie ist unlöslich in Alkohol und in kalter Kalilauge.

Für abgeschälte Feigen verfuhr ich in gleicher Weise und fand dabei dieselben Körper, mit Ausnahme des aus der Schale in den Alkohol übergehenden grünen Pigments. Die zuckerhaltige Fraktion war hier rosafarben. Die mit der Fehlingschen Lösung erhaltene Reaktion war deutlich stärker, was bewies, daß die entschälten Feigen eine verhältnismäßig größere Menge Zucker enthalten. Auch die Untersuchung der Schale selbst ergab dieselben Körper, die ich schon bei den vorhergehenden Versuchen gefunden hatte, einschließlich des aus der Kalilauge durch Essigsäure erhaltenen Niederschlags, doch findet sich Zucker in nur kleinen Mengen, während Pigment reichlich vorhanden ist. Die Alkohollösung ist nicht mehr gelb oder rosa, sondern grün und gibt mit Fehlingscher Lösung einen sehr geringen Niederschlag. Die Schale von sehr reifen Feigen ist dagegen zuckerreicher.

Die Wassermenge stellte ich jedesmal fest, indem ich eine bestimmte Anzahl Feigen mehrere Tage hindurch auf dem Wasserbade trocknete, bis keine Gewichtsveränderung mehr stattfand. Die Aschenmengen ermittelte ich, indem ich eine bestimmte Anzahl Feigen in einer Porzellanschale verbrannte und aus den Ergebnissen das Durchschnittsgewicht berechnete.

Folgende Daten haben sich so ergeben:

Frische Feigen (Fleisch).

Wasser	80,00 %
Stickstoffhaltige Substanzen	0,70 „
Fettstoffe	0,30 „
Zuckerstoffe	16,20 „
Cellulose und Samen	1,30 „
Asche	0,70 „
Gummi- oder Schleimstoffe	0,80 „

Schale der frischen Feigen.

Wasser	86,00 %
Stickstoffhaltige Substanzen	0,00 „
Fettstoffe	0,10 „
Zuckerstoffe	5,40 „
Cellulose	5,76 „
Gummi- und Schleimstoffe	2,74 „

Getrocknete Feigen.

Wasser	57,00 %
Stickstoffhaltige Substanzen	4,10 „
Fettstoffe	2,20 „
Zuckerstoffe	26,06 „
Cellulose	8,00 „
Gummi	0,18 „
Asche	2,52 „

Berichtigung

betreffend die Mitteilung von Ernst Jerusalem, „Über ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Milchsäure in Organen und tierischen Flüssigkeiten; I und II.“. Diese Zeitschr. 12, 361 und 371.

Von

Otto v. Fürth, Wien.

(Eingegangen am 31. Januar 1910.)

Wie Herr Kollege G. Embden mich in freundlichster Weise aufmerksam macht, hat sich in alle Milchsäureberechnungen in der obengenannten Arbeit Jerusalems, die in dem meiner wissenschaftlichen Leitung unterstehenden Laboratorium ausgeführt worden ist, leider ein konstanter Fehler eingeschlichen. Es ist nämlich übersehen worden und wird auch von Boas (Deutsche med. Wochenschr. 19, 940), der die jodometrische Bestimmung des aus Milchsäure abgespaltenen Aldehyds zuerst angewandt hatte, nicht erwähnt, daß bei der Einwirkung einer alkalischen Jodlösung auf Aldehyd nicht nur die zur Jodoformbildung verbrauchte Jodmenge der nachfolgenden Titration entgeht, sondern außerdem eine äquivalente Menge Jodalkali. Denn nicht das Jod als solches wirkt auf den Aldehyd ein, sondern ein unterjodigsaures Salz ($J_2 + KOH = KOJ + HJ$); säuert man hernach die Flüssigkeit an und titriert, so fehlt nicht nur das in dem zur Jodoformbildung verbrauchten Hypojodit enthalten gewesene Jod, sondern auch das Jod aus der äquivalenten Menge Jodalkali, zu dessen Umsetzung in Jod Hypojodit erforderlich ist. (Vgl. Huppert, Analyse des Harnes. 10. Aufl., S. 761.)

Berücksichtigt man diese Tatsache, so ergibt sich, daß die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter $^{n}/_{10}$-Jodlösung nicht, wie Jerusalem angegeben hatte, mit 3,0, sondern mit 1,5 multipliziert werden muß, um die Zahl der Milligramme Milchsäure

zu finden. Boas hatte als analogen Faktor die Zahl 3,38 praktisch ermittelt.

Alle Milchsäurezahlen Jerusalems sind also tatsächlich durch 2 zu dividieren und betragen die Aldehydausbeuten in seinen Kontrollbestimmungen mit reiner Milchsäure (S. 375) demnach nicht, wie er gemeint hatte, 92 bis 98%, sondern tatsächlich nur 46 bis 49% des berechneten Wertes.

Auch die Milchsäurewerte der Arbeit Türkels „Über Milchsäurebildung im Organismus" (diese Zeitschr. 20, 431) sind durch 2 zu dividieren; (allerdings handelt es sich in diesem Falle nur um Vergleichswerte).

Zwar dürfte, wie Versuche, die ich kürzlich ausgeführt habe, lehren, ein großer Teil dieses sehr bedauerlichen Fehlers durch den Umstand kompensiert werden, daß nur unter Einhaltung bestimmter Bedingungen die gesamte in einer Lösung enthaltene Aldehydmenge sich bei der (von Boas eingeführten) jodometrischen Bestimmung tatsächlich zu Jodoform umsetzt. So lehrt eine einfache Rechnung, daß Boas bei seinen Kontrollanalysen mit reinem Aldehyd tatsächlich nur 44% des theoretisch geforderten Wertes titrimetrisch gefunden hatte. Doch liegt es auf der Hand, daß unter diesen Umständen das von Jerusalem angegebene Milchsäurebestimmungsverfahren keineswegs jenen Anforderungen genügt, die an eine exakte quantitative Methode gestellt werden müssen und daß dasselbe in seiner gegenwärtigen Form nur qualitativen Zwecken oder einer relativen Schätzung dienen kann.

Ich beabsichtige nunmehr die Bedingungen der Aldehydabspaltung aus Milchsäure sowie der titrimetrischen Aldehydbestimmung einer eingehenden experimentellen Revision zu unterziehen. Erst nach Abschluß dieser Untersuchungen werde ich mir ein Urteil darüber bilden können, was eine auf der Aldehydabspaltung basierende Milchsäurebestimmungsmethode wirklich zu leisten vermag.

Über Lipoide.

Von

S. Fränkel.

IX. Mitteilung.

Über das Sahidin aus Menschenhirn.

Von

Kurt Linnert.

(Aus dem Laboratorium der L. Spiegler-Stiftung. Wien.)

(Eingegangen am 31. Januar 1910.)

Daß das menschliche Gehirn Lecithin enthalte, ist eine in ärztlichen Kreisen allgemein verbreitete Ansicht; wird doch das Ovolecithin gleichsam organotherapeutisch bei Erschöpfungszuständen des Gehirns verordnet. Eine wissenschaftliche Stütze schien diese Anschauung durch die klassischen Untersuchungen Thudichums zu gewinnen, der in unanfechtbarer Weise die Anwesenheit von Lecithin — allerdings im Ochsenhirn — nachwies. Unsere Erwartung, auch bei der Untersuchung der Lipoide des menschlichen Gehirns Lecithin zu finden, hat sich nicht erfüllt.

Die in der folgenden Mitteilung zu beschreibende Substanz, die wir Sahidin nennen, ist das vermeintliche Lecithin des Menschenhirns.

Unter Lecithin verstehen wir eine im Dotter des Hühnereies gefundene phosphor- und stickstoffhaltige Substanz, die in der Weise gebaut ist, daß eine optisch-aktive Glycerinphosphorsäure einerseits mit Cholin, andrerseits an den beiden Hydroxylen des Glycerins mit je einer gesättigten und einer einfach ungesättigten Fettsäure esterartig verbunden ist. Mit Sicherheit wurde diese Substanz nur aus dem Hühnerei dargestellt, analysiert und aufgespalten. Angaben in der Literatur,

daß Lecithin zwei Stearinsäureradikale enthalte, sind unrichtig. Lecithin ist eine ungesättigte Verbindung, und es ist nirgends in der Literatur eine durch Analysen oder Hydrolysen erwiesene Behauptung aufzufinden, daß ein gesättigtes Lecithin oder eine gesättigte, nach dem Lecithintypus zusammengesetzte Substanz aufgefunden worden wäre. Diakonow selbst, auf dessen irrtümliche Angabe hin die verschiedenen Bearbeiter dieses Themas, die über keine eigenen exakten chemischen Untersuchungen verfügen, von einem Distearyllecithin sprechen, gibt in einer Anmerkung an, daß er aus seinem Präparate Ölsäure abgespalten habe; folglich war auch seine Substanz eine ungesättigte.

Die Angaben über das Vorkommen von Lecithin im Gehirn des Menschen beruhen auf Analogieschlüssen. Thudichum berichtet über ein Lecithin, das er aus Ochsenhirn dargestellt hat. Er erhielt dieses aus den alkoholischen Mutterlaugen der „weißen Materie", indem er diese Mutterlauge erst mit Bleizucker und Ammoniak versetzte und nach Abfiltrieren der Bleisalze und Abdestillieren von Ammoniak mit Chlorcadmium fällte. Dieser Chlorcadmiumniederschlag wurde mit heißem Äther extrahiert, mit kaltem Benzol geschüttelt, dann mit kochendem Benzol behandelt, die benzolische Lösung filtriert und mit Alkohol gefällt. Er erhielt so ein Präparat aus Ochsenhirn, das der Formel $C_{43}H_{84}NPO_8CdCl_2$ entspricht. Die Platinverbindung stimmte auf die Formel $(C_{42}H_{82}NPO_8)_2$ $2HCl, PtCl_4$. Bei der Hydrolyse dieser Verbindung erhielt er Ölsäure, Palmitin- resp. Stearinsäure, Glycerinphosphorsäure und Cholin, das er hier Neurin nennt.

Diakonow[1]) hat ebenfalls aus Menschenhirn Lecithin dargestellt, indem er das zerriebene Gehirn mit Äther erschöpfte, das Ungelöste mit absolutem Alkohol bei 40° extrahierte und den gesamten Extrakt auf 0° abkühlte. Es entsteht ein Niederschlag, der mit wenig Alkohol gewaschen wird und nach seinen Angaben aus Lecithin und Cerebrin besteht. Nun zieht man mit Äther das Lecithin aus, verdunstet den Äther, löst in wenig absolutem Alkohol und kühlt auf — 10° ab, wobei sich angeblich Distearyllecithin ausscheidet, während Dioleyllecithin in Lösung bleibt.

[1]) Centralbl. f. med. Wiss. 1868.

Zuelzer[1]) hat den Versuch unternommen, Lecithin aus Gehirn darzustellen, erhielt aber mit Platinchlorid in der betreffenden Fraktion so ungenügende Mengen eines Niederschlages, daß er nur eine Platinbestimmung ausführte. Auch fehlt die Angabe, was für Gehirn Zuelzer bearbeitet hat.

W. Koch[2]) hat aus Schafhirn 5 g eines Lecithins dargestellt, indem er die Alkoholätherlösung nach Abscheidung des Kephalins mit Aceton fällte und den Niederschlag aus Essigäther umkrystallisierte. Seine Substanz ist ein ungesättigter Körper, enthält C 64,03%, H 10,4%, N 1,8%, P 3,79% und 5,08% Methyl, ist also ein Monaminomonophosphatid mit drei Methylgruppen.

Soweit die Angaben aus der Literatur. Es geht aus denselben hervor, daß man mit großer Wahrscheinlichkeit aus Ochsen- und Schafhirn ein Monoaminomonophosphatid darstellen kann, das — wenigstens ist es für das Schafhirn nachgewiesen — drei Methylgruppen auf einen Stickstoff enthält und so nur Cholin als Base führt. Aus dem Menschenhirn wurden nie Reindarstellungen des Lecithins oder lecithinartiger Verbindungen versucht, geschweige denn reine Präparate zur Analyse gebracht.

Wir haben schon früher die Beobachtung gemacht und veröffentlicht, daß die verschiedenen Organe ein und desselben Tieres verschieden gebaute Phosphatide enthalten und weiter, daß auch ein und dasselbe Organ verschiedener Tiere differente Phosphatide liefert. Diese Beobachtung können wir durch eine neue am Menschenhirn erweisen: Es hat sich bei unserer Untersuchung des Sahidins herausgestellt, daß dasselbe durchaus kein Lecithin ist, sondern ein Triaminodiphosphatid, das aus wesentlich anderen Bausteinen konstituiert ist als das Lecithin aus Eidotter und Ochsenhirn. Von den drei Stickstoffen, die es enthält, ist nach dem Resultate der Methylbestimmung nur ein Stickstoff in Form von Cholin enthalten, das wir als solches isolieren konnten.

Darstellung des Sahidins.

Bei unseren Untersuchungen gingen wir nach dem in Mitteilung VI dieser Serie veröffentlichten Verfahren vor. Die petrol-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 255.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 36, 134.

ätherische Fraktion wurde nach dem Einengen und Ausfällen des Kephalins mit absolutem Alkohol wieder eingeengt und mit alkoholischer, schwach ammoniakalischer Bleizuckerlösung so lange gefällt, als noch ein Niederschlag entstand. Dieser wird abfiltriert und die Mutterlauge destilliert, bis kein Ammoniak mehr übergeht. Dann wird sie zur Entfernung des überschüssigen Bleis mit alkoholischer Salzsäure so weit angesäuert, daß sie Kongopapier äußerst schwach blau färbt. Nun versetzt man nach Entfernung des Chlorbleis mit alkoholischer Chlorcadmiumlösung. Den sehr reichlichen Niederschlag filtriert man, wäscht ihn mit Alkohol aus und kocht ihn nach dem Trocknen im Exsiccator mit thiophenfreiem Benzol in einem Destillationskolben unter stetem Erneuern von reinem Benzol so lange, bis das überdestillierende Benzol völlig klar überläuft. Man läßt nun erkalten, filtriert von dem Ungelösten und fällt die benzolische Lösung mit absolutem Alkohol. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit absolutem Alkohol und Äther gewaschen, mit kaltem Benzol geschüttelt, von der kalten benzolischen Lösung, die etwas Farbstoff mitnimmt, befreit, neuerlich in heißem Benzol gelöst und mit absolutem Alkohol gefällt. Das bei 100° im absolutem Vakuum über Schwefelsäure zur Konstanz gebrachte Präparat ist ein lichtgelbes, krystallinisches Pulver, das in Wasser, kaltem Methyl- und Äthylalkohol und Äther unlöslich, in Chloroform und heißem Benzol leicht, in heißem Alkohol sehr schwer löslich ist, im Capillarrohr erhitzt bei 198° sich zu bräunen beginnt und bei 243° unscharf schmilzt.

Die Substanz ist optisch aktiv:

0,4480 g S. in 20 ccm Chloroform gelöst, drehten 0,18° (Mittel einer größeren Zahl von Ablesungen) nach rechts, 0,12° nach 24 Stunden.

Daraus ist $\alpha_D = 8{,}03^0$ für das frischgelöste Sahidin,
$= 5{,}35^0$ für die 24 Stunden alte Lösung.

Die Substanz zeigt also die Erscheinung der Multirotation.

Die Elementaranalyse ergab folgende Zahlen:

C- und H-Bestimmung.

0,2235 g S. geben 0,4010 CO_2 und 0,1678 H_2O entsprechend:
48,93 % C und 8,40 % H.

0,2088 g S. geben 0,3728 CO_2 und 0,1536 H_2O entsprechend:
48,69% C und 8,23% H,
im Mittel 48,84% C und 8,31% H.

N-Bestimmung:
a) Nach Kjeldahl.

0,5404 g S. verbrauchten 8,0 ccm $^n/_{10}$-L = 2,07% N,
0,4112 g S. „ 6,2 „ $^n/_{10}$-L = 2,11% N.

b) Nach Dumas.

0,9143 g S. geben 16,6 ccm bei t = 18°, B = 741 mm,
N = 2,25%.
0,5724 g S. geben 10,6 ccm bei t = 14°, B = 737 mm,
N = 2,136%,
im Mittel N = 2,14%.

P-Bestimmung nach Woy.

0,2782 g S. geben 0,0314 $Mg_2P_2O_7$, d. i. 3,14% P,
0,3126 g S. geben 0,0354 $Mg_2P_2O_7$, d. i. 3,15% P,
im Mittel 3,145% P.

Cd-Bestimmung.

0,2605 g S. gaben 0,0802 $CdSO_4$, d. i. 16,59% Cd.

Cl-Bestimmung.

0,1584 g S. gaben 0,9671 AgCl, d. i. 10,47% Cl.

Wir gelangen unter Benutzung der gefundenen Werte zu der Formel $C_{80}H_{167}N_3P_2Cd_3Cl_6O_{12}$, für die die gefundenen und berechneten Prozentzahlen in folgender Weise übereinstimmen:

	Gefunden:	Berechnet:
C	48,81	48,65
H	8,31	8,46
N	2,14	2,13
P	3,145	3,14
Cd	16,59	17,09
Cl	10,47	10,77

Die zu geringen Cadmium- und Chlorwerte lassen sich wohl nur so erklären, daß auch diese Cadmiumverbindung, wie wir es beim Umkrystallisieren von Cholincadmiumchlorid aus Wasser gesehen haben, leicht dissoziiert und dadurch der Cadmium- und Chlorgehalt ein schwankender wird.

Wir hätten also ein Triaminodiphosphatid vor uns, das 3 Moleküle Chlorcadmium addiert.

Daß es sich um einen ungesättigten Körper handelt, ergibt die Bestimmung der Jodzahl.

Von einer Jodlösung, von der 25 ccm 33,25 ccm Thiosulfat, d. i. 0,422 Jod entsprechen, verbrauchen 0,4055 g S. 10,85 ccm, d. i. 0,1377 Jod.

Daraus ergibt sich für die cadmiumhaltige Verbindung als Jodzahl 34, für die chlorcadmiumfreie 47.

Von einer Jodlösung, von der 25 ccm 34,6 ccm Thiosulfat, d. i. 0,4394 Jod entsprechen, verbrauchen 0,4957 g S. 14 ccm, d. i. 0,1778 Jod.

Für die cadmiumhaltige Verbindung Jodzahl 36.

Für die cadmiumfreie Verbindung Jodzahl 49.

Die nächste Aufgabe bestand darin, durch Hydrolysen die Bausteine des Sahidins aufzufinden und so die durch Elementaranalyse gefundene Formel zu verifizieren. Es wurden zwei Hydrolysen ausgeführt: eine Säure- und eine Barythydrolyse.

Säurehydrolyse.

40 g Sahidincadmiumlösung werden durch 2 Stunden in 5%iger äthylalkoholischer Salzsäure unter Rückflußkühlung gekocht, die Lösung wurde im Vakuum eingeengt, mit Wasser verdünnt und im Scheidetrichter erschöpfend ausgeäthert. Aus der ätherischen Lösung wird der Äther auf dem Wasserbade verjagt, der Rückstand nach vorhergehendem Kochen mit alkoholischer Lauge und Neutralisation mit Essigsäure, mit alkoholischem Bleiacetat versetzt. Der dabei entstehende Niederschlag von Bleiseifen der gesättigten und ungesättigten Fettsäuren wird abfiltriert, auf dem Filter mit warmem Wasser bleifrei gewaschen und nun die Trennung in den gesättigten und ungesättigten Anteil mit Benzol vorgenommen. Aus der heißen Benzollösung fällt beim Erkalten das ungesättigte fettsaure Bleisalz, das in Äther gelöst und mit Alkohol gefällt wird.

Das gesättigt fettsaure Blei aber wird aus der kalten Benzollösung mit Alkohol gefällt. Die Mutterlauge der Bleiseifen wird vom überschüssigen Blei befreit und, nachdem sie auf dem Wasserbade möglichst weit eingeengt worden, mit Alkohol aufgenommen. Der dabei entstehende Niederschlag erweist sich bei der Überführung in das Platinsalz als Cholin.

Das wässerig-alkoholische Filtrat wird neuerlich eingeengt und mit methylalkoholischer Barytlösung versetzt. Es fällt optisch aktives glycerinphosphorsaures Barium aus.

Barythydrolyse.

30 g Sahidincadmiumlösung werden in einer Nickelschale durch 2 Stunden mit wässeriger Barytlösung gekocht; nach dem Erkalten werden die Barytseifen abfiltriert, auf dem Filter mit warmem Wasser bariumfrei gewaschen. Das Filtrat wird im Vakuum eingeengt, filtriert und mit Alkohol so lange versetzt, als der entstehende weiße, flockige Niederschlag zunimmt (glycerinphosphorsaures Barium). Derselbe wird 5 mal in wenig Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt.

Aus der Mutterlauge läßt sich, nachdem sie auf dem Wasserbade zum Sirup eingeengt und mit absolutem Alkohol aufgenommen worden, mit alkoholischer Cadmiumlösung Cholin als Cadmiumsalz fällen.

Zum Beweise, daß es sich um Cholin handle, wurde die Cadmiumverbindung in das Platinat mit seinen charakteristischen, großen, orangegelben, rhombischen Krystallen übergeführt.

Pt-Bestimmung.

0,2206 g S. gaben 0,0699 Pt = 31,68 % gegen 31,64 % Pt der Theorie.

N-Bestimmung nach Dumas.

0,4341 g S. gaben 17,6 ccm N bei t = 17°, B. = 740 mm.
N = 4,64 % gegen 4,54 % der Theorie.

Damit war der Beweis erbracht, daß wenigstens eine der das Sahidin konstituierenden Basen Cholin sei. Die Frage, ob es die einzige sei, mußte uns die Methylimidbestimmung beantworten. War das Verhältnis der Methylgruppen zum Stickstoff nicht 3:1, dann muß neben dem Cholin wenigstens noch eine andere Base auffindbar sein.

Methyl-am-N-Bestimmung.

0,3084 g S. gaben im Glycerinbad 0,0495 AgJ
im Sandbad 0,0714 „
zusammen 0,1209 AgJ
entsprechend 0,00771342 = 2,50 % Methyl.

Daraus ergibt sich als Verhältnis

$$N:CH_3 = \frac{2,13}{14} : \frac{2,50}{15} = 0,15:0,16 = 1:1$$

0,4696 g S. gaben im Glycerinbad 0,0768 AgJ
im Sandbad 0,1241 „
zusammen 0,2009 AgJ

entsprechend 0,012817 = 2,72% Methyl.
Daraus

$$N:CH_3 = \frac{1,13}{14} : \frac{2,72}{15} = 1:1,2.$$

Da also das Verhältnis von $N:CH_3 = 1:1$ ist, die Gegenwart von Cholin, bei dem $N:CH_3 = 1:3$ ist, aber außer allem Zweifel steht, so kann nur ein Stickstoffatom am Aufbau des Cholins beteiligt sein, während die beiden anderen Stickstoffatome in Form anderer N-haltiger Komplexe vorhanden sein müssen.

Zur Identifizierung des glycerinphosphorsauren Bariums wurde eine Ba- und P-Bestimmung ausgeführt und seine optische Aktivität geprüft.

Ba-Bestimmung.

0,4570 g S. gaben 0,2255 $BaSO_4$ entsprechend 41,92% Ba gegen 42,22% der Theorie.

P-Bestimmung.

0,3116 g S. gaben 0,1037 $Mg_2P_2P_7$, P = 9,27%.

Je häufiger das Präparat umgefällt wird, desto mehr nähert sich der P-Wert dem berechneten = 9,66%; nach der dritten Fällung betrug er 8,96%, nach der fünften 9,27%, und wir zweifeln nicht, daß wir bei weiterer Reinigung den theoretisch geforderten erreicht hätten; leider ist unser Material zu Ende gegangen.

Optische Aktivität.

0,1287 g S. in 10 ccm Benzol gelöst drehten im 1 dm-Rohr die Polarisationsebene um 0,2′ nach links.

$$\alpha_D = -15,5^0.$$

Es ist dies um so interessanter, als L. Dimitz[1]) unter den Spaltlingen des Kephalins eine rechtsdrehende Glycerinphosphorsäure gefunden hat, während Willstätter und Lüdecke[2])

[1]) Diese Zeitschr. 21, 343.
[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37.

in dem Ovolecithin linksdrehende Glycerinphosphorsäure nachgewiesen haben.

Die Verarbeitung der übrigen Hydrolysenprodukte ist im Gange, und wir behalten die Veröffentlichung der gefundenen Resultate einer weiteren Publikation vor.

Einer interessanten Beobachtung möchten wir zum Schlusse nur noch Erwähnung tun. Nachdem wir das Sahidin als Cadmiumverbindung analysiert hatten, erschien es uns von wesentlicher Bedeutung, es auch in cadmiumfreier Form kennen zu lernen. Wir suspendierten es daher im Alkohol, leiteten Schwefelwasserstoff ein, und filtrierten von Schwefelcadmium ab. Schon als wir in das Filtrat, um den überschüssigen Schwefelwasserstoff zu verjagen, Kohlensäure einleiteten, noch mehr aber, als wir das Filtrat durch Vakuumdestillation einengten, fiel ein Körper aus, der sich aus heißem absolutem Alkohol umkrystallisieren ließ. Derselbe war blendend weiß, krystallisierte in zu Rosetten zusammengesetzten, unter gekreuzten Nicols leuchtenden Nadeln und zeigte einen Schmelzpunkt von 183°. An der geringen zur Verfügung stehenden Menge konnte festgestellt werden, daß der Körper phosphorfrei sei, aber Stickstoff und Chlor enthalte. Und zwar enthält diese Verbindung N:Cl in der Relation 2:1.

Analysen:

N-Bestimmung nach Dumas.

0,2761 g S. geben 6,8 ccm N bei t 16°, B. 737 mm,
d. i. N = 2,82%.

Cl-Bestimmung nach Pringsheim.

0,1603 g S. geben 0,0219 AgCl,
d. i. Cl = 3,38%.

In der Mutterlauge des Körpers läßt sich mit alkoholischer Chlorcadmiumlösung wieder ein Niederschlag erzielen.

Über die chemische Zusammensetzung der so gewonnenen beiden Verbindungen sowie über die Frage, ob bei der Einleitung von Schwefelwasserstoff in das Sahidin durch die freiwerdende Salzsäure eine hydrolytische Spaltung des Sahidins in zwei nur lose zusammenhängende Komplexe stattgefunden hat, werden wir weitere Mitteilung machen.

Methodisches zur Kohlensäurebestimmung mit der Berthelotschen Bombe.

Von

E. Grafe.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule in Berlin und dem Laboratorium der medizinischen Klinik zu Heidelberg.)

(Eingegangen am 2. Februar 1910.)

Fast allgemein wird bisher in den Stoffwechsellaboratorien bei Bilanzversuchen die Kohlensäurebestimmung im Verbrennungsrohre vorgenommen, selbst in solchen Fällen, in denen der Caloriengehalt direkt durch Verbrennung in der Berthelot-Mahlerschen Bombe bestimmt wird. Da die gewöhnliche Elementaranalyse im Verbrennungsofen eine sehr zeitraubende Untersuchung ist, die zudem fast dauernde Überwachung für gute Bestimmungen erfordert, erschien es wünschenswert, calorische und Kohlensäurebestimmung in sehr einfacher Weise miteinander zu verbinden, eventuell auch die Kohlensäure allein für sich nach Verbrennung in der Bombe auszuführen. Dieser Gedanke ist nicht neu. In manchen technischen Laboratorien werden Kohlenstoffbestimmungen im Anschluß an die Verbrennung in der Bombe vorgenommen.

Schon Berthelot selbst hat im Jahre 1892 auf diese Erweiterung der Anwendbarkeit des von ihm konstruierten Apparates hingewiesen, ohne jedoch im einzelnen die Methode zu beschreiben und Belege für ihre Leistungsfähigkeit zu geben.[1])

Hempel[2])[3]) und Kroecker[4])[5]) haben in den folgenden Jahren (1896 und 1897) diese Gedanken weiter aufgenommen und zugleich ver-

---

[1]) Berthelot, Annal. de chim. et de phys. VI. 26, 555, 1892.

[2]) Hempel, Zeitschr. f. angew. Chem. 1896, 350.

[3]) Hempel, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 30, I, 202, 1897.

[4]) Kroecker, Zeitschr. des Vereins f. Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reiches 46, 177, 1896.

[5]) Kroecker, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 30, I, 605, 1897.

sucht, auch die Wasserstoffbestimmung mit in den Kreis der Untersuchungen einzubeziehen.

Im Jahre 1897 bestimmten Zuntz und Frentzel[1]) gasanalytisch den Prozentgehalt des Bombengases an O und CO_2 und seine Menge entweder durch Wägung oder durch Messen in einer genauen Gasuhr. In der gleichen Weise ging Tangl[2]) vor, der sich aber auf die CO_2-Bestimmung beschränkte.

Da die Einrichtungen zur Gasanalyse nicht überall zur Hand sind, habe ich einer Anregung von Herrn Geheimrat Zuntz folgend gelegentlich der Erlernung der Technik der Calorimetrie in dem neu eingerichteten tierphysiologischen Institut in Berlin von neuem Versuche mit Wägung der Kohlensäure unternommen.

Das Prinzip der Methode besteht darin, daß man nach der Verbrennung der Substanz durch langsames, sukzessives Öffnen eines Ventils der Bombe die Verbrennungsgase durch Kalilaugeapparate bzw. mit Natronkalk gefüllte Türme zur Abgabe der Kohlensäure hindurchstreichen läßt. Um auch die letzten Spuren der Kohlensäure aus der Bombe zu gewinnen, wird diese mit einem Strom kohlensäurefreier Luft durchgespült.

Um dies Verfahren zu ermöglichen, ist es nur erforderlich, daß an den Seiten der Bombe, dort, wo sie mit komprimiertem Sauerstoff gefüllt wird, zuverlässig dicht schließende Ventilverschraubungen angebracht werden können, ferner müssen die Ventile zum Öffnen der Bombe so fein und präzis gearbeitet sein, daß sich die Menge der austretenden Verbrennungsgase genau so regulieren läßt, daß die Luftblasen langsam wie bei der gewöhnlichen Elementaranalyse die Kalilauge durchperlen. Gerade wegen dieser Kontrollmöglichkeit möchte ich die Anwendung der Kalilaugeapparate den von Natronkalktürmen vorziehen. Von der absoluten Dichtigkeit der Ventile, die natürlich ein Hapterfordernis für exakte Bestimmungen ist, muß man sich durch Einstellen der ganzen Bombe in Wasser häufiger überzeugen. Vor allem darf, wenn das Ventil geöffnet wird, Luft nur nach der Seite ausströmen.

Im einzelnen gestaltet sich der Gang einer Analyse folgendermaßen:

---

[1]) Zuntz und Frentzel, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 30, I, 380, 1897.

[2]) F. Tangl, Beitrag zur Kenntnis des Energiegehalts des menschlichen Harns. Engelmanns Archiv 1899, Suppl. S. 251.

0,3 bis 0,8 g der in üblicher Weise in Pastillen gepreßten Substanz wird in den Platintiegel der Bombe eingebracht. Bei sehr stickstoffreichen Substanzen ist es empfehlenswert, 1 bis 2 ccm Wasser in die Bombe zu gießen, um die Garantie zu haben, daß die bei der Verbrennung gebildete Salpetersäure quantitativ in der Bombe zurückgehalten wird, auch eventuell gebildete schweflige Säure wird so absorbiert. Auf diesen Punkt hat vor allen Dingen Hempel[1]) aufmerksam gemacht.

Nach Schließung der Bombe und Füllen mit 20 Atmosphären Sauerstoff, der natürlich auf seinen eventuellen Gehalt an Kohlensäure vorher genau untersucht sein muß, wird die Verbrennung in der bekannten Weise[2]) vorgenommen. Will man die entwickelte Wärme messen, so nimmt man die Entzündung im Calorimetergefäß vor, im anderen Falle außerhalb.

Es empfiehlt sich nach Hempel[1]) bei stickstoff- und schwefelhaltigen Substanzen, die mit den Verbrennungsgasen gefüllte Bombe 1 bis 2 Stunden stehen zu lassen, damit die entstehende Salpeter- und Schwefelsäure vollständig vom Wasser aufgenommen wird. Beachtet man diese Vorsichtsmaßregel nicht, so wird ein Teil der Säuren mit in die Absorptionsgefäße hinüber gerissen und gibt zu Fehlern Anlaß, indem die Kalilauge außer der Kohlensäure auch diese Säuren zurückhält. Bei stickstoff- und schwefelfreien Körpern genügt $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde Wartezeit, ja die Mengen von Salpetersäure sind so gering, daß sie für die Exaktheit der Resultate kaum in Betracht kommen, auch wenn man sofort die Bombe zur Kohlensäurebestimmung benutzt. Die Verbrennungsgase läßt man langsam entweichen, indem das eine, den Absorptionsapparaten zugekehrte Ventil eine Spur geöffnet wird. Die Gase passieren erst ein mit Chlorcalcium gefülltes U-Rohr, das vorher mit Kohlensäure gesättigt und mit kohlensäurefreier Luft ventiliert war. Hinter das Chlorcalciumrohr sind 2 Geißlersche oder Wetzelsche, mit 40%iger Kalilauge gefüllte Apparate eingeschaltet, von denen jeder in üblicher Weise ein kurzes, mit Chlorcalcium gefülltes Ansatzstück enthält. Den Abschluß bildet wieder ein U-Rohr, das mit Chlorcalcium und Natronkalk gefüllt ist, um zu verhindern, daß von rückwärts her Kohlensäure oder Wasserdampf an die Absorptionsgefäße herankommt.

Das Ventil an der Bombe wird so reguliert, daß langsam wie bei der gewöhnlichen Elementaranalyse die Luftblasen durch die Kalilauge hindurchperlen.

Einer Beaufsichtigung bedarf die Bestimmung nicht, eine Zunahme der Geschwindigkeit der Luftblasen ist wegen des stetig abnehmenden Druckes in der Bombe nicht möglich, es genügt von Zeit zu Zeit (alle $^1/_2$ bis 1 Stunde) das Ventil etwas weiter aufzudrehn. Ist nach frühestens etwa 3 Stunden selbst bei weitester Stellung des Ventils kein Überdruck

---

[1]) Hempel, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 30, I, 202, 1897.

[2]) Strigel, Allgemeine Methodik der Analyse organischer Stoffe. Oppenheimers Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere 1, 1908.

in der Bombe mehr wirksam, so muß der Rest von Verbrennungsgasen noch aus der Bombe herausgespült werden. Es geschieht dies durch einen Luftstrom, der durch die Passage eines mit Chlorcalcium- und Natronkalk gefüllten Turmes frei von Kohlensäure und Wasserdampf gemacht worden ist. Die Luft kann entweder mit einer Wasserstrahlpumpe durch das System hindurchgesaugt werden, wie Hempel[1]) es vorschlägt, oder nach Kroecker[2])[3]) durch Druck von Wasser, das aus einem höheren Reservoir in ein niedriges abfließt und die Luft so vor sich her schiebt, hindurchgedrückt werden.

In beiden Fällen ist es nötig, vorher das 2. Ventil an der Bombe, das mit dem Turm in Verbindung steht, der die Kohlensäure und den Wasserdampf der Spülluft aufnimmt, zu öffnen.

Nachdem die Bombe in der Art mit 3 bis 4 l Luft langsam ventiliert wurde, ist die Bestimmung zu Ende. Es braucht nur das Gewicht der Kalilaugeapparate vor und nach dem Versuche bestimmt zu werden.

Zur Prüfung der Genauigkeit der Methode nahm ich Verbrennungen von reiner, wasserfreier Benzoesäure $C_7H_6O_2$ vor.

Die Ergebnisse bringt die Tabelle.

Benzoesäure g	Berechnete CO_2 g	Gefundener Wert für CO_2 g	Differenz g	Fehler der Einzelanalyse %	Fehler im Mittel %
0,3430	0,8659	0,8620	+ 0,0039	+ 0,44	
0,4099	1,0348	1,0415	+ 0,0067	+ 0,65	
0,4440	1,121	1,1262	+ 0,0052	+ 0,46	+ 0,35
0,6551	1,6538	1,6543	+ 0,0005	+ 0,03	
0,6800	1,7167	1,7142	− 0,0028	− 0,15	

In den drei ersten Bestimmungen hatte ich die Kohlensäurebestimmung[4]) unmittelbar an die Verbrennung angeschlossen. Infolgedessen waren die geringen Mengen von salpetriger Säure mit den Verbrennungsgasen in die Absorptionsgefäße übergegangen. Während sonst bei etwa gleich großen Mengen Substanz und gleichem Druck meist 0,6 bis 0,8 ccm $^n/_{10}$-Lauge zur Bindung der vom Wasser in der Bombe zurückgehaltenen salpetrigen Säure nötig waren, fanden sich in diesen 3 Fällen nur noch Spuren von Säure vor. Durch Berücksichtigung dieses Umstandes wird der Fehler um etwa 0,2% kleiner.

Bei den beiden letzten Verbrennungen blieb die Bombe $^1/_2$ bzw. 2 Stunden stehen, ehe die Kohlensäurebestimmung vorgenommen wurde.

---

[1]) Hempel, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 30, I, 202, 1897.

[2]) Kroecker, Zeitschr. des Vereins für Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reiches 46, 177, 1896.

[3]) Kroecker, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 30, I, 605, 1897.

[4]) Der Kohlensäuregehalt der Sauerstoffbombe, die ich verwandte, betrug für die einmalige Ladung der Bombe mit 20 Atmosphären 0,0005 g, wie Blindversuche ergaben.

Die Resultate zeigen, daß nach genügender Einübung die Genauigkeit dieser Methode hinter der der gewöhnlichen Elementaranalyse kaum zurückbleibt, bzw. unter Anwendung aller Kautelen sogar die gleiche ist.

Die außerordentlichen Vorteile der Methode liegen auf der Hand.

In prinzipiell der gleichen Weise kann gleichzeitig mit der Kohlensäurebestimmung auch eine Wasserdampfbestimmung verbunden werden. Voraussetzung ist dabei nur, daß die Bombe vor dem Versuch absolut lufttrocken ist, und daß man den Wassergehalt des verwendeten Sauerstoffes kennt. Um die letzten Reste des Wassers aus der Bombe zu vertreiben, muß diese erwärmt werden. Zugleich mit dem Wasser gehen natürlich auch Säuren mit über, doch ist der hierdurch bedingte Fehler, der ja approximativ in Abrechnung gebracht werden kann, unwesentlich.

Bezüglich der Einzelheiten der Methode der Wasserdampfbestimmung verweise ich auf die erwähnten Arbeiten von Hempel und Kroecker. Kennt man außer Kohlenstoff und Wasserstoff noch den Stickstoff und die Menge der Asche, so ist damit auch indirekt der Sauerstoff gegeben, in dem allerdings alle Fehler der anderen Analysen zum Ausdruck kommen.

Um diese zu vermeiden, haben Zuntz und Frentzel[1]) den verwendeten Sauerstoff und die nach der Verbrennung in der Bombe übrig bleibende Menge desselben gasanalytisch direkt bestimmt.

So bietet also die Elementaranalyse mit Hilfe der Verbrennung in der Berthelotschen Bombe dem Biologen bei großer Genauigkeit eine große Einfachheit und Vielseitigkeit und besitzt dadurch einen großen Vorteil vor der gewöhnlichen Elementaranalyse im Verbrennungsofen.

---

[1]) Zuntz und Frentzel, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 30, I, 380, 1897.

Der Einfluß der Trinkwassersalze auf die körperliche Entwicklung.

Nach den Arbeiten von Carl Röse.

Von

Ragnar Berg.

(Aus dem physiol.-chem. Laboratorium von Dr. Lahmanns Sanatorium auf Weißer Hirsch bei Dresden.)

(Eingegangen am 2. Februar 1910.)

In der im Titel skizzierten Frage hat Röse eine große Anzahl Untersuchungen ausgeführt. Diese Untersuchungen, die ursprünglich durch Röses Erfahrungen als Zahnarzt veranlaßt wurden, sind nur zum Teil und in zahnärztlichen Zeitschriften veröffentlicht worden. Die Resultate dieser Arbeiten, soweit sie für den Biochemiker Beachtenswertes gebracht haben, sollen im folgenden kurz dargelegt werden; bezüglich der Details der Versuchsanordnungen sei auf die früheren Veröffentlichungen Röses[1]) verwiesen.

---

[1]) Röse, Über die Zahnverderbnis in den Volksschulen. Österr.-Ungar. Vierteljahresschr. f. Zahnheilk. 1894; Über die Zahnverderbnis bei den Musterungspflichtigen in Bayern. Ibid. 1896; Zahnverderbnis u. Militärtauglichkeit. D. Monatsschr. f. Zahnheilk. 22, Heft 3, 1904; Zahnverderbnis und Beruf. Ibid. 22, Heft 5, 1904; Zahnverderbnis und Zensur. Ibid. 22, Heft 6, 1904; Der günstige Einfluß des harten Brotes auf die Gesunderhaltung der Zähne. Ibid. 22, Heft 8, 1904; Die Zähne der Dalarner und Gotländer. Ibid. 22, Heft 12, 1904; Die Wichtigkeit der Mutterbrust für die körperliche und geistige Entwickelung des Menschen. Ibid. 23, Heft 3, 1905; Beruf und Militärtauglichkeit. Polit.-anthropol. Revue 4, Heft 3; Zahnverderbnis und Speichelbeschaffenheit. Deutsche Monatsschrift f. Zahnheilk. 23, Heft 12, 1905; Erdsalzarmut und Entartung. Ibid. 26, Heft 1 bis 6, 1908, auch als Sonderdruck im Verlag von Julius Springer, Berlin, erschienen; Der Einfluß der Erdsalze auf die Harnabsonderung. Ms. 1909.

Röse hat verschiedene Beobachtungen gemacht, die auf einen gewissen Zusammenhang zwischen der geologischen Formation des Bodens und den Zahnverhältnissen der Bevölkerung hindeuten.

In Mittelthüringen ist die Ackerkrume sehr reich an Kalk und Magnesia, und die Bevölkerung besitzt durchschnittlich ganz vorzügliche Gebisse, während die Zahnverhältnisse in dem kalkarmen Freiburg i. B. sehr schlecht sind. Bald ergaben sich mehrere ähnliche Verhältnisse in Baden selbst: Es stellte sich in Freiburg heraus, daß die 14 bis 18 Jahre alten Lehrlinge, die aus kalkreichen Gegenden von Baden und Württemberg zugezogen waren, weitaus bessere Gebisse hatten als die in Freiburg geborenen Volksschüler, obgleich diese jünger waren.

In dem in der Nähe von Freiburg liegenden kalkarmen Günterstal hatten nur 2% der Kinder völlig gesunde Gebisse, während das kalkreiche Uffhausen, das nur 3 km in der Luftlinie entfernt liegt, 12,3% Kinder mit intakten Gebissen aufwies. In den beiden größeren Ortschaften Waldkirch und Ihringen war die Differenz sogar noch größer (0,8 bzw. 29,2%).

Der Kalkgehalt des Erdbodens könnte nun offenbar auf zwei Wegen den Organismus des Menschen beeinflussen: durch das Trink- und Kochwasser oder durch die Bodenerzeugnisse. Für den letzteren Weg sprachen die großen Differenzen im Kalkgehalte, die die Aschetabellen in Königs „Nahrungs- und Genußmittel" aufweisen. Sicherheitshalber wurde jedoch auch die Härte[1]) der Trinkwässer bestimmt, wobei es sich herausstellte, daß bisweilen die Trinkwasserhärte eine ganz andere war, als man nach der geologischen Formation hätte erwarten können. Bisweilen ist der Erdboden ganz kalkarm, während die Trinkwässer hart sind: die Ackerkrume ist im Laufe der Zeiten durch Anbau und noch mehr durch Regen völlig ausgelaugt, aber auf seinem Wege in die Tiefen der Erdschichten und wieder empor zur Erdoberfläche passiert das Wasser noch intakte, kalkreiche Gesteinslager, wo es sich mit Kalk sättigen kann. In Lößgegenden findet man so oft Wässer mit außerordentlich hoher bleibender Härte, die dann zum großen Teil von Calciumnitrat herrührt: die im Löß vermodernden Pflanzen- und Tierreste haben ihre Salpetersäure und ihren Kalk an das hinuntersinkende Wasser abgegeben.[2]) Andererseits zeigen Gegenden mit anstehendem Kalkstein

---

[1]) Unter „Härte" werden im folgenden deutsche Härtegrade gemeint.

[2]) Solche stark nitrathaltigen Wässer müssen als hygienisch einwandfrei bezeichnet werden. Gefahrbringend ist dagegen die gleichzeitige Anwesenheit von Ammonium und Nitriten, die auf eine Verjauchung des Wassers deuten. Sehr ausgeprägt ist bei den nitrathaltigen Wässern oft der süße Geschmack, im Gegensatz zum kratzenden Geschmack der reinen Gipswässer oder dem indifferenten Geschmack der Wässer mit Calciumbicarbonat.

häufig eine sehr geringe bleibende Härte, so daß das gekochte Wasser ausgesprochen kalkarm ist. Da doch der Kulturmensch weitaus das meiste Wasser in gekochtem Zustande als Kaffee, Tee, Schokolade, Suppe, Bier usw. genießt, leidet also die Bevölkerung z. B. in der schweizerischen Stadt Frauenfeld bei einem Wasserleitungswasser von 20,2° Gesamt- aber nur 1,7° bleibender Härte geradezu Kalkmangel, obgleich die Stadt mitten im miocänen Molassekalk gelegen ist.

Schon die ersten Untersuchungen ergaben, daß die Güte der Zähne sich stets nach der Trinkwasserhärte, nicht aber nach dem Kalkgehalt der Ackerkrume richtet, und alle folgenden Untersuchungen, in deren Verlauf Röse über 220000 Menschen aus den verschiedensten Gegenden Deutschlands und Schwedens untersucht hat, haben diesen Befund bestätigt.

Die genauere Beobachtung ergab dann noch weiter, daß, wie schon oben erwähnt wurde, fast nur die bleibende Härte des Wassers ausschlaggebend ist, wie aus folgenden Resultaten der Untersuchungen in Baden 1894 hervorgeht.

Tabelle I.

Beziehungen zwischen der Trinkwasserhärte und der Häufigkeit von Zahnerkrankungen.

Ortschaft	Durchschnittshärte der Trinkwässer		Geologische Formation	Anzahl der untersuchten Kinder	Erkrankte Zähne pro Individuum im Durchschnitt		Völlig gesunde Gebisse	
	Bleibende Härte	Gesamthärte			Anzahl	Prozentsatz %	Anzahl	Proz.-Satz %
Waldkirch . .	0,5°	1,1°	Gneiß	518	8,7	36,9	4	0,8
Freiburg i. B. (Volksschulen)	1,4°	2,2°	"	3460	8,4	35,0	45	1,3
Günterstal und Herdern . .	1,4°	2,2°	"	118	8,2	34,6	4	3,4
Oberried . . .	1,4°	3,4°	"	111	6,8	28,2	2	1,8
Wolffenweiler-Ebringen .	3,3°	20,2°	Jurakalk	219	5,3	21,9	18	8,2
Uffhausen . .	3,8°	16,8°	"	162	5,0	20,7	20	12,3
Ihringen . . .	12,9°	32,5°	Löß	530	3,0	12,4	155	29,2

Wenn Röse trotzdem, um bei seinen weitläufigen Untersuchungen Arbeit zu sparen, nur die Gesamthärte bestimmt hat, so geschah das in der Erwägung, daß die reinen Bicarbonatwässer sehr selten sind, und bei den sonstigen Wässern also für Vergleichszwecke die Bestimmung der Gesamthärte ohne weiteres genügt.

Als dann die ausführliche chemische Analyse der Trinkwässer mit berücksichtigt wurde, zeigte es sich aber, daß die

reinen Gipswässer mit einer hohen bleibenden Härte durchaus nicht die besten Zähne zur Folge haben, vielmehr muß das Wasser auch noch eine gewisse Menge Magnesiumsalze enthalten, um die günstigste Wirkung hervorzubringen. Das Optimum lag bei einem Verhältnis der Magnesiahärte (als MgO berechnet) zur Kalkhärte gleich 1 : 4 bis 9, gewöhnlich 1 : 5 bis 7.[1])

Auf das von Röse bei der Untersuchung der Volksschulkinder (87617 Kinder aus 164 Ortschaften Deutschlands und Schwedens) zusammengetragene Material kann hier nicht eingegangen werden; zur Orientierung diene folgende Übersichtstabelle.

Tabelle II.

Durchschnittliche Gesamthärte des Trinkwassers	Anzahl der untersuchten Ortschaften	Anzahl der untersuchten Kinder	Durchschnittszahl der erkrankten Zähne	Durchschnittlicher Prozentsatz der erkrankten Zähne %	Durchschnittlicher Prozentsatz der völlig gesunden Gebisse %	Verteilung der verschiedenen Zahnfarben nach Prozenten				
						hellgelb	weißgelb	weiß	grau	graublau
A. Dörfer und kleinere Städtchen.										
Unter 2,0°	15	5185	9,1	37,0	1,3	0,2	4,6	27,3	59,6	8,3
2,0—4,9°	21	5092	8,3	33,7	3,4	0,2	4,8	40,1	50,7	4,2
5,0—9,9°	22	3875	7,4	29,7	4,3	1,6	20,1	55,2	22,0	1,1
10,0—14,9°	21	3214	6,9	27,4	6,5	1,7	39,8	48,9	9,4	0,2
15,0—19,9°	18	3240	6,6	26,7	6,4	6,5	46,4	41,8	5,0	0,3
20,0—24,9°	19	3513	5,9	23,9	9,8	5,7	49,6	40,1	4,5	0,1
25,0—29,9°	17	2632	4,7	18,9	14,5	9,9	63,9	23,3	2,8	0,1
30,0—37,9°	11	2004	4,2	17,1	17,9	24,1	64,2	11,0	0,7	—
über 38°	14	2833	3,8	15,4	20,2	29,5	56,9	12,4	1,2	—
B. Städte über 6000 Einwohner.										
2,2°	Freiburg i. B.	3460	8,4	35,0	1,3	—	—	—	—	—
3,2°	Nordhausen	3868	8,7	34,8	2,1	—	—	—	—	—
6,9°	Dresden	47208	7,5	30,1	3,0	—	—	—	—	—
17,9°	Hannover	802	7,4	29,5	3,9	—	—	—	—	—
19,6°	Sondershausen	230	6,3	25,6	4,8	—	—	—	—	—
54,8°	Frankenhausen	461	4,4	17,8	21,0	—	—	—	—	—

[1]) A. a. O. (D. Zahnärztl. Wochenschr. 12, 337, 1909) habe ich darauf hingewiesen, daß dieses Optimum in auffälligster Weise mit dem zusammenfällt, das man auch für das maximale Gedeihen der Blattpflanzen gefunden hat. Eine Erklärung dieses durchaus nicht zufälligen Zusammenfallens wird in einem zweiten Aufsatz gegeben werden.

Man beachte: **Je härter das Wasser, um so besser die Zähne, und die Stadtkinder haben schlechtere Zähne als die Landbevölkerung aus Orten mit gleich hartem Wasser.**

Schon länger ist es bekannt, daß auch die Farbe der Zähne ein äußeres Merkmal auf ihre Güte abgibt. Die besten Zähne sind hellgelb oder gelbweiß, während eine graue oder graublaue Farbe ein sehr schlechtes Material kennzeichnet und die weißen Zähne eine Mittelstellung einnehmen. In der Übersichtstabelle ist das prozentuale Vorkommen dieser fünf Zahnfarben mit aufgeführt worden, und es zeigt sich da, daß **mit steigender Wasserhärte die graublauen und grauen Zähne immer mehr verschwinden, während die Menge der gelben und weißgelben Zähne zunimmt.**

Bei den Kindern, besonders in den Dorfschulen, kann man annehmen, daß das Untersuchungsmaterial wenigstens zum weitaus größten Teil tatsächlich unter dem Einfluß des in dem untersuchten Orte befindlichen Trinkwassers gestanden hat und noch steht. Untersucht man dagegen ältere Personen, so haben diese sehr häufig längst die Heimat der Kindheit verlassen, wo der Grund zu ihrem Körperbau gelegt wurde; deshalb geben Untersuchungen, die z. B. an Musterungspflichtigen ausgeführt wurden, ein völlig falsches Bild, wenn man nur die Trinkwasserhärte des Musterungsortes oder des augenblicklichen Aufenthaltsortes der Leute berücksichtigen wollte. Die Stadtflucht der Landbevölkerung ist ja allbekannt: seit Einführung der Freizügigkeit üben die Städte, vor allem die Großstädte und die Industriezentren eine geradezu unheimliche Anziehungskraft auf die ländliche Jugend aus. Die Zugewanderten werden aber infolge erblicher Veranlagung und der Lebensweise während der Kindheit körperlich nicht den Eingeborenen konform.

Bei seinen Untersuchungen über die Zahnverhältnisse bei Musterungspflichtigen, die Röse in 22 Musterungsbezirken an 5641 Individuen angestellt hat, hat er deshalb die Geburtsorte der Musterungspflichtigen notiert und später auch in diesen Orten die Trinkwässer untersucht. Dann fallen die Resultate genau so aus wie bei den Schulkindern, wofür hier nur ein Beispiel gebracht werden möge.

Tabelle III.

Einheimische 20jährige Musterungspflichtige des Herzogtums Gotha.

Durchschnittliche Gesamthärte der Trinkwässer in den Geburtsorten der Musterungspflichtigen	Herkunft der Musterungspflichtigen	Anzahl der Musterungspflichtigen	Durchschnittszahl d. erkrankten Zähne	Durchschnittlicher Prozentsatz der erkrankten Zähne %
0,8—1,2°, Leitung seit 1873	Eingeborene der Stadt Gotha	110	9,8	33,3
unter 5,0°	Eingeborene Landbevölkerung	116	9,1	31,3
jetzt unter 5° (Leitungen), früher härteres Brunnenwasser	„ „	117	8,0	26,9
5,0—24,9°	„ „	57	6,3	21,5
25,0—34,9°	„ „	121	5.0	16,9
über 35,0° Härte	„ „	135	4,0	13,7

Man beachte: Je härter das Trinkwasser des Geburtsortes, desto besser die Zähne!

Man sieht, auch hier geht die Häufigkeit der Zahnerkrankungen vollkommen parallel der sinkenden Trinkwasserhärte! Das Resultat bleibt sich völlig gleich, ob man alle Musterungspflichtigen oder nur den jüngsten Jahrgang, die 20jährigen, in Betracht zieht.

Tabelle IV.

Einheimische Musterungspflichtige der Stadt Nordhausen mit Kreis Hohnstein.

Durchschnittliche Gesamthärte in d. Geburtsorten der Musterungspflichtigen	Herkunft der Musterungspflichtigen	Anzahl der Musterungspflichtigen	Durchschnittszahl der erkrankten Zähne bei allen	Durchschnittszahl der erkrankten Zähne bei den 20jährigen	Durchschnittlicher Prozentsatz der erkrankten Zähne bei allen %	Durchschnittlicher Prozentsatz der erkrankten Zähne bei den 20jährigen %
1,8—4,5° (Leitung)	Eingeborene der Stadt Nordhausen	203	10,7	10,2	36,1	34,7
unter 10°	Eingeborene Landbevölkerung	70	10.1	9,3	33,7	31,2
10,0—19,9°	„ „	209	7,8	7.7	26.2	26,2
20,0—29,9°	„ „	224	6,4	6,3	21,6	21,3
über 30°	„ „	130	6,2	5,8	20.7	19,6

Man beachte: Je härter das Trinkwasser des Geburtsortes, desto besser die Zähne!

Aber auch bei den menschlichen Se- und Exkreten macht sich der Einfluß der Trinkwasserhärte bemerkbar, wie Röse

Tabelle V.

Speichelbeschaffenheit bei 13jährigen deutschen Kindern.

Ortschaft	Durchschnittliche Gesamthärte der untersuchten Trinkwässer	Anzahl der untersuchten Kinder	Durchschnittszahl der erkrankten Zähne	Durchschnittliche Menge des in 45 Minuten abgeschiedenen Speichels	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl vom vorhandenen Speichel	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl von 100 ccm Speichel	100 ccm Speichel enthielten mg: Gesamt-Asche	P_2O_5	CaO	MgO	K_2O	Na_2O
A. Dörfer.												
Wasserthaleben, Knaben	47,0°	5	1,2	60,2	11,8	19,6	258,2 (Knaben und Mädchen)	38,0	9,5	0,8	verunglückt	
„ Mädchen	47,0°	6	2,0	55,5	10,2	18,4						
Clingen, den 9. III. 1904	39,9°	12	1,1	64,7	12,3	17,6	260,1	29,3	10,4	—	82,4	41,7
„ den 10. III. 1904	39,9°	12	1,1	66,8	12,0	16,2	248,9	31,9	11,8	1,1	84,4	36,5
Steigertal[1]	57,5°	9	4,0	51,1	7,2	13,3	259,1	33,7	13,2	0,5	103,1	26,3
Durchschnitt	harte Wässer		1,8	60,7	10,8	16,7	256,4	33,1	11,1	0,8	88,8	35,6
Grumbach bei Wilsdruff	13,8°	13	5,8	59,0	10,2	17,3	—	—	—	—	—	—
Weistropp	23.6°	11	2,5	57,6	9,0	15,6	247,4	34,2	7,4	0,7	90,0	38,3
Durchschnitt	mittelharte Wässer		4,3	58,3	9,7	16,5	247,4	34,2	7,4	0,7	90,0	38,3
Jonsdorf	1,2°	11	9,9	43,0	5,5	12,0	256,6	33,8	12,7	0,6	91,5	38,3
Reinhardtsdorf	1,9°	12	10,1	44,9	4,9	9,9	264,9	38,4	16,7	0,7	99,5	33,1
Durchschnitt	weiche Wässer		10,0	44,0	5,2	10,9	260,9	36,2	14,8	0,7	95,7	35,6
B. Städte über 6000 Einwohner.												
Frankenhausen	früher: 54,8° seit kurzem: 10,6°	20	3,6	53,0	8,0	15,1	261,2	33,8	8,7	0,7	96,5	42,8
Nordhausen	3,2°	42	7,8	38,6	4,5	11,6	256,5	35,9	9,8	0,9	92,1	30,8

Man beachte: In den Ortschaften mit hartem Trinkwasser und guten Zähnen ist die durchschnittliche Menge und Alkalescenz des Speichels größer als in Ortschaften mit weicherem Wasser!

[1]) Reines Gipswasser.

zuerst beim Speichel nachgewiesen hat. Schon Michel (D. Monatsschr. f. Zahnheilk. 19, 1901) hatte einen Zusammenhang zwischen der geologischen Formation und der Speichelbeschaffenheit vermutet: er kam zu dem Schluß, daß der Speichel in kalkreichen Gegenden auch kalkreicher als in kalkarmen Gegenden sei, und daß der Kalkgehalt des Speichels eine wesentliche Rolle für die Gesunderhaltung der Zähne spiele.

Um diese Angaben im großen nachzuprüfen, hat Röse bei 206 12 bis 14jährigen Volksschulkindern in 12 deutschen und schwedischen Ortschaften Speichelproben entnommen, und zwar wurden stets sämtliche Kinder dieses Alters in der betreffenden Schule zu den Untersuchungen herangezogen. Die Speichelentnahme geschah stets zur gleichen Tageszeit, zwischen 8 bis 10 Uhr vormittags, also zwischen dem ersten und dem zweiten Frühstück; jedes Kind mußte genau 45 Minuten lang auf chemisch reiner Watte kauen und seinen Speichel dabei in weithalsigen, mit Gummistopfen versehenen Glasgefäßen auffangen. Da die Alkalescenz des Speichels beim Faulen ansteigt, so mußte die Alkalescenzbestimmung sofort an Ort und Stelle der Untersuchung vorgenommen werden. In einigen Orten wurde der Speichel jedes einzelnen Kindes gesondert verascht und untersucht, in anderen wurden dagegen Durchschnittsanalysen der nach der Alkalescenzbestimmung zusammengegossenen Proben ausgeführt: Tabellen V und IV.

Von allen Speichelbestandteilen, die in der Asche bestimmt wurden, zeigt das Natron die größten Schwankungen, alle übrigen schwanken innerhalb viel engerer Grenzen. Besonders gilt dies für den Kalkgehalt des Speichels, wobei sich außerdem herausstellte, daß der Kalkgehalt entgegen Michels Annahme nicht mit der Trinkwasserhärte zunimmt, im Gegenteil ist die Konzentration im Speichel aus kalkarmen Gegenden eher etwas höher als in kalkreichen Gegenden. Dagegen aber zeigte sich ein geradezu auffälliger Einfluß der Trinkwasserhärte auf Menge und Alkalescenz des Speichels: die Menge des in 45 Minuten abgeschiedenen Speichels steigt mit der Trinkwasserhärte, und die Alkalescenz des Speichels ist in Gegenden mit harten Trinkwässern sowohl relativ als auch absolut größer als bei weichem Trinkwasser. Weiter scheint mit steigender Trinkwasserhärte die Kalimenge des Speichels abzunehmen, die Menge des Natrons und des Schwefels aber zu steigen, wie am besten aus Tabelle V hervorgeht. Endlich gehen Speichelalkalescenz und Güte der Zähne vollkommen parallel.

Tabelle

Durchschnittsanalysen des Speichels von 12 bis 14jährigen

Ortschaft	Anzahl der untersuchten Kinder	In 45 Minuten wurden ausgeschieden									
		Speichelmenge in ccm	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl	in mg							
				Gesamt-Asche	SiO_2	P_2O_5	SO_3	Cl	Fe_2O_3	CaO	MgO
					Alkalescenz des in 45 Minuten ausge-						
Clingen, den 9. III. 1904	12	64,7	12,3	171,7	—	18,6	—	—	—	6,6	—
Clingen. den 10. III. 1904	12	66,8	12,0	169,2	—	20,4	—	—	—	7,6	0,5
Wasserthaleben	11	57,6	10,9	148,8	1,0	21,9	10,3	26,7	0,1	5,5	0,5
Durchschnitt		63,1	11,7	163,2	1,0	20,3	10,3	26,7	0,1	6,6	0,5
					Alkalescenz des in 45 Minuten ausge-						
Weistropp	11	57,6	9,0	142,5	2,9	19,7	12,1	20,1	0,1	4,2	0,4
Frankenhausen	20	53,0	8,0	137,8	1,0	17,9	3,9	25,5	0,1	4,6	0,4
Steigerthal	9	51,1	7,2	132,9	—	16,9	—	—	—	6,7	0,2
Rättvik	8	51,0	5,9	111,7	0,7	17,6	—	—	—	4,1	0,3
Jonsdorf	11	43,0	5,5	107,4	—	14,0	—	—	—	5,1	0,2
Durchschnitt		51,1	7,1	126,5	1,5	17,2	8,0	22,8	0,1	4,9	0,3
					Alkalescenz des in 45 Minuten ausge-						
Reinhardtsdorf	12	44,9	4,9	116,2	—	16,8	—	—	—	6,6	0,3
Wisby	24	51,5	4,9	110,3	0,3	17,9	2,9	28,6	0,1	4,5	0,4
Nordhausen	42	38,6	4,5	99,2	1,3	13,9	3,9	20,0	0,1	3,8	0,3
Slite, Mai 1904	12	44,7	3,4?	104,1	—	14,2	—	—	—	4,4	0,3
Slite, Sept. 1904	10	46,2	3,9	115,0	0,4	16,4	3,9	22,0	0,2	4,0	0,5
Öja	12	41,3	3,1?	97,3	0,9	13,5	3,5	20,7	0,1	3,4	0,3
Durchschnitt		44,5	4,5	107,1	0,7	15,5	3,6	22,8	0,1	4,5	0,3
Gesamtdurchschnitt	206	50,9	7,4	126,0	1,1	17,1	5,8	23,4	0,1	5,1	0,3

Vor einiger Zeit haben H. van der Molen und J. Offring[1]) Röses Arbeiten auf diesem Gebiet besprochen und darüber ein absprechendes Urteil gefällt. Vor allem kritisieren sie die von Röse verwendete Methode zur Bestimmung der Speichelalkalescenz, indem sie hervorheben, daß Röse Lackmuspapier als Indicator verwendet habe, daß man aber bei der Titration von den im Speichel vorkommenden schwachen Basen einen stark sauren Indicator (Methylorange) hätte verwenden sollen.

An anderer Stelle[2]) habe ich die Einwände der beiden Autoren theoretisch und experimentell widerlegt und gezeigt, daß Methylorange für vorliegenden Zweck unbrauchbar ist, weil die damit angezeigte Alkalescenz zu 70% von Diphosphaten und Salzen organischer Säuren hervorgerufen wird, die für die hier allein in Frage kommende Neutralisation der im Munde entstehenden Gärungsmilchsäure völlig belanglos sind und weil durch Methylorange nur etwa die Hälfte der tatsächlich

[1]) Diese Zeitschr. 15, 350, 1909.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 64, 67, 1910.

VI.

Schulkindern aus 12 deutschen und schwedischen Ortschaften.

		100 ccm Speichel enthielten												Durchschnittliche Gesamthärte der untersuchten Trinkwässer
			in mg											
K_2O	Na_2O	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl	Gesamt-Asche	SiO_2	P_2O_5	SO_3	Cl	Fe_2O_3	CaO	MgO	K_2O	Na_2O	
schiedenen Speichels über 10 ccm $^n/_{10}$-HCl.														
53,6	28,8	17,6	260,1	—	29,3	—	—	—	10,4	—	82,4	41,7	39,9°
56,9	26,2	16,2	248,9	—	31,9	—	—	—	11,8	1,1	84,4	36,5	
verunglückt		18,9	258,2	1,7	38,0	18,0	46,2	0,2	9,5	0,8	verunglückt		47,0°
55,3	27,5	17,6	255,7	1,7	33,1	18,0	46,2	0,2	10,6	1,0	83,4	39,1	44,0°
schiedenen Speichels 5 bis 10 ccm $^n/_{10}$-HCl.														
51,8	22,0	15,6	247,4	5,1	34,2	20,9	34,8	0,2	7,4	0,7	90,0	38,3	23,6°
50,9	22,6	15,1	261,2	2,0	33,8	7,5	48,3	0,2	8,7	0,7	96,5	42,8	32,7°
52,4	14,0	13,3	259,1	—	33,7	—	—	—	13,2	0,5	103,1	26,3	57,5°[1]
45,7	10,8	11,5	218,6	1,1	34,5	—	—	0,2	8,1	0,6	89,5	21,1	6,5°
38,7	15,0	12,0	256,6	—	33,8	—	—	—	12,7	0,6	91,5	38,3	1,2°
47,9	16,9	13,5	248,6	2,7	34,0	14,2	41,6	0,2	10,0	0,6	94,1	33,4	24,3°
schiedenen Speichels unter 5 ccm $^n/_{10}$-HCl.														
43,3	14,3	9,9	264,9	—	38,4	—	—	—	16,7	0,7	99,5	33,1	1,9°
verunglückt		9,5	214,2	0,5	34,7	5,7	55,5	0,2	8,7	0,7	verunglückt		13,6°[2]
35,6	11,9	11,6	256,5	3,3	35,9	10,1	51,7	0,3	9,8	0,9	92,1	30,8	3,2°
42,0	13,0	7,6?	232,6	—	33,0	—	—	—	10,1	0,6	93,7	29,4	14,5°[2]
53,6	9,6	8,4	248,8	0,8	35,6	8,4	41,7	0,4	8,6	1,0	116,0	20,8	
37,6	11,4	7,4?	235,7	2,2	32,8	8,6	50,1	0,2	8,3	0,7	91,0	27,7	26,9°[2]
42,4	12,0	9,1	242,1	1,7	35,1	8,2	51,3	0,3	10,4	0,8	98,5	28,4	12,0°
46,8	16,6	13,3	247,3	2,1	34,3	11,3	47,8	0,2	10,3	0,7	94,1	32,2	

vorhandenen, freien, mittels Lackmus nachweisbaren organischen Basen erkannt werden können. Bei der Verwendung von Lackmus dagegen wird die gefundene Speichelalkalescenz nur zu etwa 10% von Diphosphaten, dagegen zu 20% von Bicarbonaten und zu 70% von freien organischen Basen verursacht. Obgleich mit Methylorange höhere Werte erhalten werden, sind diese also unbrauchbar, während die Titration unter Verwendung von Lackmus als Indicator ein fast absolut genaues Bild über die Schutzkräfte des Speichels gegenüber cariesbildenden Säuren gibt.

Die übrigen Einwände der beiden Verfasser sind für jeden, der sich längere Zeit eingehend mit diesen Fragen beschäftigt hat, völlig gegenstandslos, weshalb ein näheres Eingehen darauf überflüssig sein dürfte.

Es ist ja selbstverständlich, daß der günstige Einfluß erdsalzreicher Ernährung auf die Wirksamkeit der Speicheldrüsen

[1]) Reines Gipswasser!

[2]) Reines Calciumbicarbonatwasser!

während der Entwicklung des Körpers, also im jugendlichen Alter, weit größer sein muß als bei Erwachsenen. Von großer Wichtigkeit war es, noch festzustellen, ob überhaupt und bis zu welchem Grade auch bei Erwachsenen eine Beeinflussung der Speichelbeschaffenheit durch die Ernährung möglich sei.

Zu dem Zweck wurden bei 5 gleichmäßig lebenden Versuchspersonen von Zeit zu Zeit Speichelproben entnommen und untersucht. In der ersten Versuchsperiode (1. Februar bis 8. April) wurde als Trink- und Kochwasser ein sehr reines Wasserleitungswasser mit nur 0,8° Gesamthärte benutzt. Der Genuß von Milch, Eiern, Gemüse und Obst wurde auf ein möglichst geringes Maß eingeschränkt. Als Brot diente eine recht weiße, nährsalzarme Sorte, im übrigen herrschte eine kalkarme Fleischkost vor.

Darauf trat ein völliger Wechsel der Lebensweise ein: vom 9. April bis zum 15. Juni wurde als Koch- und Trinkwasser ein Brunnenwasser mit 56,7° Gesamt- und 43,0° bleibender Härte benutzt. Während dieser Zeit wurde wenig Fleisch, dafür ein dunkles, erdsalzreiches Brot und größere Mengen Milch, Eier, frische grüne Gemüse und Obst genossen.

Vom 16. Juni bis zum 2. August war die Ernährung dieselbe wie in der vorhergehenden Periode, nur wurde jetzt noch von jeder Versuchsperson täglich mindestens 1 l eines erdsalzreichen Mineralwassers getrunken.

Die von jeder Versuchsperson täglich mit der Nahrung durchschnittlich aufgenommene Menge von Aschenbestandteilen betrug in Grammen:

Tabelle VII.

In der Zeit vom	CaO	MgO	Fe_2O_3	K_2O	Na_2O	P_2O_5	Cl	SO_3
1. II.–8. IV.	0,8495	0,5979	0 2477	3,7822	4,8850	4.1381	4.6365	0 3633
9. IV.–15. VI.	2,8188	0,8156	0,2604	5 2619	5,5321	5 5674	5.5658	0 6768
16. VI.–2. VIII.	3,4091	1,1087	0,2666	5,2719	6,1817	5,5674	6,0299	0,9681

In den drei Versuchsabschnitten ist die tägliche Zufuhr von Kalk im Verhältnis von 8:28:34 gesteigert worden, während der Genuß aller anderen Stoffe nur in sehr mäßigen Grenzen zunahm.

Aus den Tab. VII u. VIII geht hervor, daß durch kalkreiche Ernährung die Alkalescenz des Speichels tatsächlich auch bei Erwachsenen sowohl relativ wie absolut zunimmt: sowohl Alkalescenz als Menge des Speichels sind bei allen Versuchspersonen etwas gesteigert worden. Als interessanter Nebenbefund muß hervorgehoben werden, daß die durch Kalkzufuhr verursachte Steigerung der

Tabelle VIII.

Der Einfluß erdsalzreicher Ernährung auf die Beschaffenheit des Speichels.
Durchschnittsresultate.

Anzahl der Analysen bei jeder Versuchsperson	Herr C. R.			Herr R. B.			Frau R.			Frau B.			Frl. P.			Gesamtdurchschnitt		
	Menge des in 45 Min. abgeschiedenen Speichels ccm	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl vom vorhandenen Speichel	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl von 100 ccm Speichel	Menge des in 45 Min. abgeschiedenen Speichels ccm	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl vom vorhandenen Speichel	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl von 100 ccm Speichel	Menge des in 45 Min. abgeschiedenen Speichels ccm	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl vom vorhandenen Speichel	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl von 100 ccm Speichel	Menge des in 45 Min. abgeschiedenen Speichels ccm	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl vom vorhandenen Speichel	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl von 100 ccm Speichel	Menge des in 45 Min abgeschiedenen Speichels ccm	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl vom vorhandenen Speichel	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl von 100 ccm Speichel	Menge des in 45 Min. abgeschiedenen Speichels ccm	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl vom vorhandenen Speichel	Alkalescenz in ccm $^n/_{10}$-HCl von 100 ccm Speichel
I. Kalkarme Ernährungsweise.																		
7	74,8	11,2	14,9	51,4	6,3	12,2	33,9	3,3	9,7	46,9	4,7	10,0	57,4	5,1	8,9	**52,9**	**6,12**	**11,14**
II. Kalkreiche Ernährungsweise ohne Mineralwasser.																		
2	84,0	15,8	18,8	43,0	6,6	15,4	30,5	3,5	11,5	48,0	5,4	11,3	62,5	6,8	10,8	**53,6**	**7,62**	**13,56**
III. Kalkreiche Ernährungsweise mit Mineralwasser.																		
6	99,5	19,6	19,5	48,9	7,6	15,5	42,5	4,6	10,7	50,7	6,0	11,8	67,0	7,2	10,7	**61,7**	**9,00**	**13,64**

Alkalescenz um so größer ist, je größer die ursprüngliche Alkalescenz war: durch ererbte Anlage gut entwickelte Speicheldrüsen vermögen eben die Vorteile erdsalzreicher Ernährung besser und schneller auszunützen als schon entartete Drüsen.

Durch besondere Versuche während einiger außerordentlich heißer Augusttage wurde dann noch bewiesen, daß auch sehr große Quantitäten (bis $2^1/_2$ l pro Tag und Person) kalkarmen Wassers nur eine Vergrößerung der 45minutlichen Speichelabsonderung von durchschnittlich $2^1/_2$ ccm hervorrief, während nur durch kalkreiche Ernährung allein ohne irgendwelche Flüssigkeitszufuhr trotz der gewaltigen Hitze eine Steigerung um 9 ccm veranlaßt wurde.

Beim Aussetzen der kalkreichen Lebensweise ging zuerst die Speichelmenge zurück, und zwar in höherem Grade als später die Alkalescenz. Der Organismus hat eben versucht, einen Speichel von annähernd gleicher Beschaffenheit auf Kosten der Menge zu liefern.

Gewöhnlich wird angegeben, daß der Speichel normalerweise alkalisch, neutral, amphoter oder sauer sein kann. Nach Röses Untersuchungen ist jedoch der Speichel eines gesunden Menschen stets stark alkalisch, und zwar sollen 100 ccm Speichel zur Neutralisation mindestens 15 ccm $^n/_{10}$-HCl erfordern.

Unter den untersuchten 211 Individuen wurde nur ein einziges Mal, bei einem stark unterernährten, kränklichen Kinde mit schauderhaftem Gebiß ein sauer reagierender Speichel gefunden, sonst waren alle Proben ausgesprochen alkalisch.

Der stark alkalische Speichel scheint das wichtigste Schutzmittel des Körpers gegen Zahnfäule zu sein und zeigt einen eigentümlichen, starken, an Edelkastanienblüten erinnernden Geruch.

Der stark alkalische Speichel ist ärmer an Kali, aber reicher an Natron und organischen Schwefelverbindungen.

In den physiologischen Handbüchern findet man gewöhnlich die Angabe, daß die alkalische Reaktion des Speichels von der Anwesenheit von Bicarbonaten und Diphosphaten herrühre. Dies kann unmöglich der Fall sein. Man denke sich, daß einem Menschen stets eine $^n/_{50}$-Bicarbonatlösung den Mund durchspülte, dem würde bald die Mundschleimhaut in Fetzen heruntergehen! Aus den Resultaten der Tabelle IX läßt sich nun berechnen, wie hoch die durch anorganische Basen verursachte Alkalescenz im höchsten Falle sein könnte.

Tabelle IX.

Zusammensetzung der Speichelasche von 100 ccm Speichel (Tabelle VI) in $^n/_{10}$-mg-Äquivalenten.

Ortschaften mit einer Speichelalkalescenz von	Basen							Säuren			Überschuß der Basen über die Säuren	Titrierte Alkalescenz	Überschuß der titrierten Alkalescenz, der nicht auf anorganischen Basen beruhen kann
	Fe_2O_3	CaO	MgO	K_2O	K_2HPO_4	Na_2O	Summe	SO_3	Cl	Summe			
über 10 ccm $^n/_{10}$-HCl	0,07	3,79	0,50	8,43	0,78	12,61	26,18	4,50	13,01	17,51	8,67	17,60	8,93
„ 5-10 „ „	0,07	3,57	0,30	10,45	0,80	10,77	25,96	3,55	11,72	15,27	10,69	13,50	2,81
unter 5 „ „	0,08	3,71	0,40	11,06	0,82	8,16	24,23	2,05	14,45	16,50	7,73	9,80	2,07
Gesamtdurchschnitt	0,07	3,68	0,35	10,36	0,80	9,84	25,10	2,83	13,46	16,29	8,81	13,30	4,49

Hieraus geht dreierlei hervor: daß erstens die durch anorganische Basen ev. verursachte Alkalescenz sich stets ziemlich gleich bleibt (9,4 bis 12,3 ccm $^n/_{10}$ in 100 ccm Speichel), daß also zweitens ein großer Teil der Alkalescenz, wenigstens bei den stärker alkalischen Speichelproben, von organischen Basen herrühren muß, und daß drittens die beobachteten Unterschiede in der Speichelalkalescenz hauptsächlich oder ausschließlich durch organische Basen hervorgerufen werden:

Je stärker alkalisch der Speichel ist, desto größer ist die durch organische Basen verursachte Alkalescenz, desto größer ist auch die Speichelmenge, und endlich desto besser sind die Zähne.

Die durch anorganische Basen verursachte Alkalescenz muß aber noch viel größer sein, als oben berechnet wurde, weil im Speichel außer Schwefelsäure, Chlor und Phosphorsäure auch organische Säuren vorkommen, die auch an anorganischen Basen gebunden sind. In meiner oben (S. 290) erwähnten Untersuchung gelang es mir denn auch, nachzuweisen, daß in einem Speichel, dessen Alkalescenz 12,5 ccm $^n/_{10}$ in 100 ccm Speichel betrug, 70 % davon durch organische Basen und 20 % durch Bicarbonate, 10 % durch Diphosphate hervorgerufen wird.

Röse zeigte weiter, daß der natürliche, frische Mundhöhlenschleim völlig neutral reagiert und beim Faulen nicht, wie behauptet worden war,[1]) sauer, sondern alkalisch wurde. Durch Untersuchungen an 13 Schulkindern und 4 Erwachsenen

[1]) Odontolog. Blätter 1904, Maiheft.

hat Röse nachgewiesen (Tabelle X), daß der Gehalt des Speichels an Mucin mit der Alkalescenz ziemlich parallel geht, daß also die Zähne um so besser sind, je mucinreicher der Speichel ist. Oder richtiger: je gesünder die Zähne und die Speicheldrüsen sind, desto größere Mengen Mucin werden sowohl relativ als auch absolut mit dem Speichel ausgeschieden.

Tabelle X.

Mucingehalt des Speichels und Zahnverderbnis.

Versuchsperson	Menge des in 45 Min. abgeschiedenen Speichels	Mucingehalt		Alkalescenz in $^n/_{10}$ ccm		Anzahl Zähne		Prozentsatz erkrankter Zähne
	ccm	vom vorhandenen Speichel mg	in 100 ccm Speichel mg	vom vorhandenen Speichel	von 100 ccm Speichel	gesunde	erkrankte	
C. T.	38	3,0	7,9	3,0	8,0	13	15	53,6
A. Wr.	58	5,0	8,5	9,0	15,0	17	7	29,2
C. G.	26	5,5	21,1	3,0	11,5	21	7	25,0
G. S.	62	5,6	9,0	10,5	16,9	23	4	14,8
Durchschnitt	46,0	4,8	11,6	6,4	12,9	18,5	8,3	30,7
A. H.	41	6,0	14,6	7,5	18,3	20	8	28,6
T. S.	45	6,0	13,3	6,2	13,8	22	6	21,5
C. W.	55	6,5	11,8	10,5	19,0	22	6	21,5
E. P.	95	6,5	6,8	21,0	22,1	28	0	0
Durchschnitt	59,0	6,3	11,6	11,3	18,3	23,0	5,0	17,9
M. P.	67	7,4	11,1	14,0	20,9	24	2	7,7
H. K.	86	7,7	9,0	20,0	23,3	22	5	18,5
A. Wd.	73	8,5	11,6	13,0	17,8	20	8	28,6
B. K.	60	8,9	15,0	6,5	10,8	26	2	7,1
A. G.	61	11,0	18,0	8,5	13,9	23	5	17,9
Durchschnitt	69,4	8,7	12,9	12,4	17,3	23,0	4,4	16,0

So wie auf die Sekretionsorgane (Speicheldrüsen) wirkt die Zufuhr von Kalksalzen auch auf die Exkretionsorgane (Dickdarmschleimhaut und Nieren) anregend. Nach einem mir zur Einsicht übergebenen Manuskript hat Röse auch hierfür den experimentellen Beweis in einer größeren Anzahl zum Teil sehr lange durchgeführter Versuchsreihen mit Erwachsenen erbracht. Um dem noch nicht veröffentlichten Manuskript nicht vorzugreifen, sollen hier nur die wichtigsten Ergebnisse zu diesem Thema erwähnt werden. Danach übt kaltes Wasser an sich schon eine stärkere harntreibende Wirkung als wärmeres, unter Umständen können

sogar durch kaltes Wasser Gesundheitsstörungen erzeugt werden. Ein Kohlensäurezusatz zum Wasser bewirkt fast stets in den ersten 2 bis 3 Stunden vermehrten, später verminderten Harndrang, wobei die Verminderung bisweilen so stark werden kann, daß die 24stündige Harnmenge beim Genuß von kohlensäurehaltigem Wasser kleiner als beim Genuß gleicher Mengen von gewöhnlichem Wasser wird. Völlig natürliches kohlensaures Wasser wirkt dabei stärker harntreibend als künstlich mit Kohlensäure imprägniertes Wasser.

Nachdem diese für die Versuchsanordnung wichtigen Vorfragen klargestellt waren, wurden folgende Resultate erhalten:

Kalkgaben in Form von Tricalciumphosphat sind ohne Einwirkung auf die Nierentätigkeit. Dicalciumphosphat scheint eher eine hemmende als fördernde Wirkung auf die Harnabsonderung auszuüben.[1]) Durch Gaben von Calcium-Sulfat, -Nitrat, -Carbonat und -Chlorid wird dagegen die Harnabsonderung fast stets vermehrt; Ausnahmen scheinen nur solche Individuen zu machen, die auf Kohlensäurezufuhr durch Harnverhaltung reagieren, also sicherlich einen anormalen Stoffwechsel besitzen. Auch durch sehr hohe Kalkgaben wird die Harnacidität nur unmerklich herabgesetzt, niemals wurde der Harn alkalisch. Durch Kalkzufuhr (ausgenommen in Form von Phosphaten) wird der Gehalt des Harnes an Phosphaten erheblich erniedrigt, und zwar scheint diese Erniedrigung vor allem auf Kosten der Monophosphate zu geschehen (günstige Wirkung von Kalkgaben bei Uraturie!). Dagegen ist Magnesiumzufuhr ohne Einwirkung auf die Phosphorsäureausscheidung durch den Harn. Kalkzufuhr wirkt entgegen anderen Angaben nicht natriumsparend. Personen, die aus kalkreichen Gegenden stammen, scheinen auch betr. Harnausscheidung schneller und stärker auf Kalkgaben zu reagieren als solche, deren Stoffwechsel schon von Geburt an auf eine geringe Kalkzufuhr eingestellt ist. Geeignete Kalkgaben können bei aufgeschwemmten korpulenten Individuen durch Wasserabtreibung Gewichtsabnahme bewirken. Bei Kalkzufuhr erfolgt die Ausscheidung des Kalkes nicht sofort; schon nach dreitägiger Einnahme ziemlich kleiner Kalkmengen wird ein Teil Kalk vom Organismus zurückgehalten, der erst in den folgenden 2 bis 3 Tagen zur Ausfuhr gelangt. Infolgedessen hält der vergrößerte Harndrang ebenfalls 2 bis 3 Tage nach dem Aussetzen der Kalkgaben an.

Auch bei großen Kalkgaben wird der Kalkgehalt des Harnes nur unwesentlich gesteigert, zuweilen zeigt er sogar eine Tendenz zur Ab-

[1]) Dieses sonderbare Verhalten ist vielleicht doch leicht zu erklären. Die Phosphorsäure wird beim Vorhandensein von genügenden Kalkmengen von der Dickdarmschleimhaut als Triphosphat ausgeschieden; bei Tricalciumphosphatgaben wird das Calcium also überhaupt nicht die Nieren passieren, während bei Diphosphatgaben ein Mangel an Kalk vorhanden ist. Die Phosphorsäure erfordert in diesem Falle für ihre Ausscheidung durch die Dickdarmschleimhäute noch einen Zuschuß von Kalk seitens des Organismus, wodurch die Harnabsonderung beeinträchtigt wird.

nahme, die jedoch durch die gesteigerte Harnabsonderung wettgemacht wird, so daß die in 24 Stunden mit dem Harn ausgeschiedene Kalkmenge doch etwas gesteigert wird.

Diese Befunde bestätigen in der Hauptsache die Resultate der Untersuchungen, die Riesell, Soborow, Quinke, Lehmann und Schetelig sowie v. Noorden und seine Schüler J. Strauß und G. Herxheimer angestellt haben. Zur Erklärung des Mechanismus der Kalkwirkung auf die Nieren könnte man ja annehmen, daß die Phosphorsäure auf die Harnabsonderung nachteilig einwirke, und daß dieses Hindernis durch die Ablenkung der Phosphorsäure durch Kalk nach dem Darme entfernt werde. Das Calcium scheint jedoch außerdem sicher selbst anregende Wirkung auf die Nieren auszuüben. Das geht auch aus den Versuchen an überlebenden Organen von Hédon und Fleig[1]) hervor, wonach geringe Zusätze von Kalk zu der zur Durchblutung benutzten Flüssigkeit rhythmische Kontraktionen hervorriefen, die durch gesteigerte Kalkmengen sogar in Tetanie übergingen. Während die Kalksalze also eine exzitierende Wirkung auf die glatte Muskulatur ausüben, hier besonders auf die der Urether, fanden Hédon und Fleig dagegen, daß Natriumsalze erschlaffend, geradezu vergiftend auf den Urether einwirken und schon in geringen Gaben die Kalkwirkung paralysieren. In praktischer Erkenntnis dieser schädigenden Wirkung des Natriumions verschreiben auch die Wildunger Ärzte ihren nierenleidenden Patienten nicht die kochsalzreiche Helenenquelle, sondern die an Kochsalz sehr arme Georg-Viktorquelle, obgleich diese durch den hohen Eisengehalt Obstipation verursacht.

Auch Röse konnte bei Versuchen mit geringen Gaben von Natriumbicarbonat (3 g pro die) oder Kochsalz (2 g pro die) im allgemeinen eine bisweilen starke Abnahme der Harnmenge nachweisen. Aus demselben Grunde, wohl teilweise auch auf Grund des hohen Phosphorsäuregehaltes wirkt Milch in Gaben von $^3/_4$ l täglich gewöhnlich stark vermindernd auf die 24stündliche Harnmenge ein. Eine Folge ist das starke Ansteigen der Harnacidität bei Milchgaben, während Kochsalz und in noch weit stärkerem Maße Natriumbicarbonat die Acidität herabsetzen.

Schon viel früher hatte Röse Fütterungsversuche bei einer Ziege angestellt, um auch die Einwirkung des Calciums auf die Milchdrüse zu studieren. Das Tier, das für die $1^1/_2$ Jahr dauernden Versuche gedient hat, stammte aus einem kalkarmen Orte des Thüringer Waldes. Während der ersten kalkarmen Fütterungsperiode sank die Milchmenge von über 1 l bis auf 551 ccm, und das Körpergewicht ging innerhalb 3 Wochen von 23,5 kg auf 21 kg zurück und blieb dann mit geringen Schwankungen um 20 bis 20,5 kg stationär. Bei der auf die 72tägige kalkarme Periode folgenden 16tägigen Darreichung von täglich 8 g $CaCO_3$ und Tränken mit 9° hartem Wasser stieg die Milchmenge ein wenig (zirka 10%) an, das Körpergewicht nahm aber rapide zu, bis zu 25 kg. Als

[1]) Compt. rend. 1903; Arch. intern. d. Physiol. 1905 bis 1906.

dann 11 Tage statt $CaCO_3$ täglich 20 g Dicalciumphosphat gegeben wurden, sank die Milchmenge sehr rasch auf 390 ccm, den tiefsten überhaupt bei den Versuchen erreichten Stand, und gleichzeitig ging das Körpergewicht auf 23 kg zurück. Darauf folgte wieder eine 13 tägige kalkarme Fütterungsperiode, wobei die Milchmenge ungefähr dieselbe (410) blieb, während das Körpergewicht noch weiter, bis auf 22,5 kg, zurückging. Als jetzt 25 Tage statt kalkarmen Wiesenheus ein kalkreiches Esparsette- bzw. Luzerneheu verfüttert wurde, stieg die Milchmenge auf 492 ccm und das Körpergewicht auf 23 kg. Die Milchmenge stieg auch bei gleichem Futter während 24 tägiger Darreichung von 20 g Calciumdiphosphat pro die weiter bis auf 560 ccm, während das Körpergewicht zwischen 23,5 bis 24,5 kg schwankte.

Bis jetzt war das Versuchstier in einem kleinen, dumpfen Stalle von nur 2 qm Bodenfläche untergebracht gewesen. Als die Ziege sich dann aber frei in einer kalkarmen Gegend bewegen durfte und auch eine mehr fachmännische Pflege bekam, stieg die Milchmenge rasch an und betrug während des folgenden halben Jahres durchschnittlich 1365 ccm. Unter sonst gleichen Verhältnissen in kalkreicher Gegend gehalten lieferte sie das nächste Halbjahr sogar durchschnittlich 1500 ccm Milch.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Zufuhr von Kalk als kohlensaurem Kalk oder durch kalkreiche Nahrung das Körpergewicht erhöht und die Milchmenge vergößert hat, während umgekehrt die Unterbindung der Kalkzufuhr ein Sinken des Körpergewichtes sowohl als der Milchmenge zur Folge hat. Auch hier wie bei den Harnversuchen hat die Gabe von Dicalciumphosphat bei kalkarmem Futter schlimmer gewirkt als die bloße Verminderung des Gehaltes des Futters an Kalk. Wenn jedoch gleichzeitig sehr kalkreiches Futter gegeben wurde, so ist die schädliche Phosphorsäurewirkung durch den Kalkgehalt der Nahrung mehr als paralysiert worden.

War so im Allgemeinbefinden und in der Sekretmenge des Tieres ein Einfluß der Kalkfütterung unverkennbar, so blieb dieser Einfluß wie beim Speichel auch auf die Zusammensetzung der Milch dagegen fast vollständig aus. Zwar zeigte der Gehalt an Fett und Calcium eine Tendenz zum Steigen bei kalkreicher Fütterung, die Schwankungen, besonders im Kalkgehalt sind jedoch sehr gering und unregelmäßig, und der Gehalt an den übrigen Mineralbestandteilen blieb völlig unbeeinflußt.

Wenn Röse im vorhergehenden einen Zusammenhang zwischen dem Kalk- bzw. Magnesiagehalt des Trinkwassers und

der Nahrung einerseits, andererseits dem Aufbau und der Tätigkeit von so verschiedenen Organen, wie Zähnen, Speicheldrüsen, Nieren und Milchdrüsen, tatsächlich nachweisen konnte, so lag es nahe, einen allgemeinen günstigen Einfluß der Kalkzufuhr auf den ganzen Organismus zu erwarten.

Elben[1]) war schon bei seinen Untersuchungen über die Militärtauglichkeit in Württemberg zu der Vermutung gekommen, daß zwischen der Militärtauglichkeit der Landesbewohner und der geologischen Formation des Landes Beziehungen bestehen müßten, konnte jedoch keine klare Ergebnisse erzielen. Als Röse gelegentlich seiner Schulkinderuntersuchungen dann die Trinkwässer in Württemberg untersuchte, wobei es sich ja zeigte, daß die Häufigkeit der Zahnerkrankungen von der Trinkwasserhärte, aber nicht vom Kalkgehalt der Ackerkrume abhängig war, fand er gleichfalls ein Parallelgehen der Militärtauglichkeit, wie sie von Elben angegeben war, mit der Härte des Wassers. Die Gegenden mit dem härtesten (bis 30,7°) Wasser lieferten den höchsten Prozentsatz (bis 59%) Militärtaugliche, während umgekehrt die Gegenden mit geringster Militärtauglichkeit Wasserhärten unter 10° besaßen.

Tabelle XI.

Trinkwasserhärte und Militärtauglichkeit.

Musterungsbezirk	Durchschnittliche Gesamthärte d. Trinkwässer i. d. Geburtsorten d. Musterungspflichtigen	Prozentsatz der taugl. Musterungspflichtigen %
Stadt Sebnitz und umliegende **Landbezirke der Sächsischen Schweiz,** Frühjahrsmusterung 1902.		
Einheimische der Stadt Sebnitz	1,2 Härtegrade	26,0
Einheimische Landbevölkerung der umliegenden Amtsgerichte Königstein, Schandau u. Sebnitz	3,9 „	36,3
Vergleich des **Landbezirkes Meißen** mit den **Landbezirken der Sächsischen Schweiz,** Frühjahrsmusterungen 1902 und 1903.		
Aushebungsbezirke Schandau und Neustadt (ohne Stadt Sebnitz) .	3,9 Härtegrade	32,8
Landbezirk Meißen (ohne Stadt Meißen)	20,6 „	40,6
Vergleich der Kreise **Schwerin** und **Samter** in der Provinz **Posen,** Frühjahrsmusterung 1902.		
Kreis Schwerin	19,3 Härtegrade	28,7
Kreis Samter	31,7 „	34,6

[1]) Württemberg. Jahrbücher 1900, H. 1.

Tabelle XI (Fortsetzung).

Musterungsbezirk	Durchschnittliche Gesamthärte d. Trinkwässer i. d. Geburtsorten d. Musterungspflichtigen	Prozentsatz der taugl. Musterungspflichtigen %
Eingeborene polnische Musterungspflichtige des Kreises Samter, Frühjahrsmusterung 1902.		
Kreis Samter, eingeborene Polen .	unter 30 Härtegraden	33,0
„ „ „ „	über 30 „	37,5
Eingeborene Musterungspflichtige der Landratsämter Gotha, Ohrdruf und der Stadt Gotha, Frühjahrsmusterung 1901.		
Eingeborene der Stadt Gotha . .	0,8 Härtegrade	36,3
Einheimische Landbevölkerung .	unter 25,0 „	40,3
„ „ .	über 25,0 „	51,3
Herzogtum Coburg, Frühjahrsmusterung 1901.		
Einheimische Landbevölkerung . . .	unter 20,0 Härtegraden	44,2
„ „ . . .	20,0–24,9 „	46,1
„ „ . . .	über 25,0 „	50,5
Provinz Dalarne (Schweden), Durchschnitt der drei Jahrgänge 1899, 1900, 1901.		
Musterungspflichtige aus Transtrand und Malung	2,2 Härtegrade	68,8
Musterungspflichtige aus Rättvik und Leksand	6,7 „	79,0
Unterherrschaft des Fürstentums Schwarzburg-Sondershausen, Frühjahrsmusterung 1901.		
Einheimische Musterungspflichtige .	unter 10,0 Härtegraden	39,2
„ „ .	10,0–19,9 „	39,7
„ „ .	über 20,0 „	44,1
Kreis Weißensee, Frühjahrsmusterung 1903.		
Einheimische Musterungspflichtige .	unter 40,0 Härtegraden	51,6
„ „ .	über 40,0 „	54,3
Stadt Nordhausen und Kreis Hohnstein, Frühjahrsmusterung 1903. (Die eingeklammerten Zahlen bedeuten die Ergebnisse beim 20jährigen, jüngsten Jahrgang allein.)		
Eingeborene d. Stadt Nordhausen	3,2 Härtegrade	37,9 (29,8)
Einheimische Landbevölkerung .	unter 10,0 „	41,4 (31,4)
„ „ .	10,0–29,9 „	40,7 (38,3)
„ „ .	über 30,0 „	50,8 (51,3)

Man beachte: Je härter das Trinkwasser, um so höher die Militärtauglichkeit!

Bei der Nachprüfung dieses Befundes an der Hand der Aushebungslisten des Landes konnte Röse dann dieselbe Regelmäßigkeit auch für das Königreich Sachsen nachweisen: Die kalkreichen Gebiete im Norden Sachsens liefern einen größeren Prozentsatz von tauglichen Soldaten als

die kalkarmen Bezirke Südsachsens. Bei Berücksichtigung der Trinkwasserhärte konnte der Einfluß selbst geringer Härteschwankungen deutlich nachgewiesen werden, und Untersuchungen in Posen, Thüringen und Schweden ergaben genau dieselben Resultate, wobei es gleichgültig war, ob man alle Musterungspflichtige oder nur den jüngsten Jahrgang, die 20jährigen, berücksichtigte: stets geht die steigende Trinkwasserhärte mit einem steigenden Prozentsatz Tauglicher einher (s. Tabelle XI).

In einem Spezialfalle konnte sogar ganz auffallend gezeigt werden, wie durch Einführung eines sehr weichen Wasserleitungswassers als Trinkwasser bei sonst ziemlich gleich gebliebenen Lebensverhältnissen die Militärtauglichkeit einer Stadtbevölkerung absolut abgenommen hatte.

Tabelle XII.

Einheimische Militärpflichtige aus Gotha und Vororten.

Jahrgänge	Prozentsatz der tauglichen Militärpflichtigen	Durchschnittl. Körpergröße der Militärpflichtigen	Prozentsatz der tauglichen Militärpflichtigen	Durchschnittl. Körpergröße der Militärpflichtigen	Die Stadt Gotha hatte im Vergleich zu ihren Vororten Siebleben und Sundhausen
	in Siebleben und Sundhausen		in der Stadt Gotha		
1874—1878	37,0 %	166,4	45,6 %	166,8	8,6 % mehr Taugliche
1899—1901	57,0 %	166,4	51,1 %	165,6	5,9 % weniger „

Die Stadt Gotha hatte bis 1872 wie die Vororte Siebleben und Sundhausen heute noch hartes Brunnenwasser von 44,0 bis 60,0 Härtegraden. Seit Einführung eines aus Teichen kommenden Wasserleitungswassers in Gotha hat sich die Militärtauglichkeit der Stadtbevölkerung um 14,5 % verschlechtert, und gleichzeitig ist die Körpergröße um 1,2 cm kleiner geworden, während dieses Maß bei der Bevölkerung der Vororte gleich geblieben ist.

Da die Beurteilung, ob ein Militärpflichtiger tauglich ist oder nicht, immerhin etwas subjektiv sein kann, notierte Röse später in einigen Bezirken auch die absoluten Maße des Brustumfanges und der Körperlänge, und auch dann ergab sich ein vollkommener Parallelismus zwischen der Trinkwasserhärte des Geburtsortes und der körperlichen Entwicklung: je härter das Trinkwasser des Geburtsortes, um so höher die Militärtauglichkeit, um so weiter der Brustumfang und um so größer die Körperlänge (s. Tabelle XIII).

Selbstverständlich sind eindeutige Resultate bei diesen Untersuchungen nur da zu erwarten, wo die Musterungsbezirke von einer möglichst einheitlichen Rasse bewohnt sind. Bezirke mit heterogenen Rasseverhältnissen, wie z. B. das Bezirkskommando Meißen in Sachsen, gaben zwar etwas verwischte Resultate, aber auch da ließen sich die Beziehungen zwischen Trinkwasserhärte und Militärtauglichkeit immer noch klar nachweisen.

Tabelle XIII.

(Die eingeklammerten Daten stammen vom 20jährigen, jüngsten Jahrgang allein.)

	Durchschnittl. Gesamthärte d. Trinkwässer in d. Geburtsorten der Musterungspflichtigen	Prozentsatz der tauglichen Musterungspflichtigen %	Durchschnittlicher Brustumfang
I. 20jährige Musterungspflichtige aus Stadt Gotha nebst Vorstadt Siebleben (Frühjahrsmusterung 1901).			
Kind und Eltern in der Stadt geboren	0,8 Härtegrade	27,6	80,0 bis 86,5
Kind in der Stadt, wenigstens eins der Eltern auf dem Lande geboren . .	0,8 „	39,5	80,5 „ 87,8
Zugewanderte Landgeborene	0,8 „	57,1	81,7 „ 89,0
Eingeborene der Vorstadt Siebleben	48,2 „	63,2	82,8 „ 90,2
II. 20—22jährige Musterungspflichtige aus Nordhausen und Vorstadt Salza (Frühjahrsmusterung 1903).			
Eingeborene der Stadt Nordhausen	3,2 Härtegrade	37,9 (29,8)	78,4 bis 85,4 (78,6 „ 85,2)
Zugewand. Landgeborene	3,2 „	40,0 (34,0)	79,9 „ 86,9 (80,4 „ 87,0)
Eingeborene der Vorstadt Salza	43,5 „	53,5 (53,3)	80,2 „ 87,1 (81,8 „ 88,7)

Man beachte: Je härter das Trinkwasser, um so größer die Militärtauglichkeit und um so weiter der Brustumfang!

Daß das Calcium und das Magnesium für die körperliche Entwicklung von größter Bedeutung sind, steht ja schon seit langem fest. Durch die vorstehenden Untersuchungen hat nun Röse mit absoluter Sicherheit nachweisen können, daß der Mensch für die Zufuhr dieser beiden Elemente von der Härte des Trinkwassers abhängig ist. Sowohl bei einzelnen Organen wie beim Gesamtorganismus wurde bewiesen, daß, je härter das Trinkwasser während der Entwicklungsjahre ist, desto vollendeter auch der körperliche Aufbau wird, aber auch daß das Wohlbefinden des erwachsenen Menschen in gewissem Maße von der Trinkwasserhärte abhängig ist.

Zur Biologie der Phagocyten. V.

Einwirkung isosmotisch-isotonischer und anisotonischer Halogensalzlösungen.

Von

H. J. Hamburger und J. de Haan.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Groningen, Niederlande.)

(Eingegangen am 3. Februar 1910.)

Früher wurde nachgewiesen, daß die Phagocyten für jede Änderung im Wassergehalt ihres Mediums sehr empfindlich sind. Fügt man zum Serum 20% Wasser hinzu, so wird das phagocytäre Vermögen der Zellen um mehr als 13% herabgesetzt.[1] Wird dem Serum 0,1% NaCl hinzugesetzt, eine Zunahme, die bekanntlich beim normalen Menschen jeden Tag vorkommen kann, so wird eine Herabsetzung des phagocytären Vermögens von 17% beobachtet.[2] Indessen stellte sich bei diesen Versuchen heraus, daß die gefundenen Herabsetzungen des phagocytären Vermögens zwar in der Hauptsache, aber doch nicht ausschließlich einer Änderung des Wassergehaltes zugeschrieben werden konnten. Es ging dies hervor aus folgendem Experiment:[3])

Man teilt eine Leukocytenaufschwemmung in zwei Teile; ein Teil wird dem Einfluß einer 0.9%igen NaCl-Lösung und der andere Teil dem Einfluß einer 1%igen NaCl-Lösung ausgesetzt. Man konstatiert dann, daß in der zweiten, schwach hypertonischen Flüssigkeit die Phagocytose geringer ist als in der 0,9%igen (isotonischen) NaCl-Lösung. Bringt man nun die mit der 1%igen Kochsalzlösung behandelten Leukocyten teilweise in ihr eigenes Serum, teilweise in 0,9%ige NaCl-Lösung zurück, so beobachtet man, daß die Leukocyten in ihrem eigenen Serum das ursprüngliche phagocytäre Vermögen zurückbekommen haben. Nicht

---

[1]) Hamburger und Hekma, diese Zeitschr. 3, 88, 1907.

[2]) Hamburger und Hekma, diese Zeitschr. 7, 102, 1907.

[3]) Hamburger und Hekma, diese Zeitschr. 9, 275, 1908.

aber bekommen sie es vollständig zurück, wenn man sie in eine 0,9%ige Kochsalzlösung versetzt. Es wurde dieser Unterschied dem zugeschrieben, daß in der 1%igen NaCl-Lösung die Phagocyten außer einer Änderung ihres Wassergehaltes auch eine Änderung ihrer chemischen Zusammensetzung erfahren hatten. Diese Änderung konnte in Serum wieder rückgängig gemacht werden, nicht aber in der 0,9%igen NaCl-Lösung, in der die verlorenen Ionenarten nicht vorhanden sind.

Die Zahlendifferenzen, auf denen diese Ansichten beruhten, waren zwar überzeugend, aber doch nicht groß. So schien es uns nicht überflüssig, zumal es sich hier um ein für die Lebenstätigkeit der Zellen wichtiges Prinzip handelt, die Angelegenheit noch in einer anderen Weise zu beleuchten.

Um zu erforschen, ob in der Tat bei der Einwirkung hyper- und hypoisotonischer Lösungen, außer der Änderung im Wassergehalt auch der Ein- und Austritt von Ionen die Phagocytose beeinflußt, haben wir die Halogensalze verglichen. Wenn, so dachten wir, Cl-, Br- oder J-Ionen in der Tat in die Phagocyten eindringen, so wird das phagocytäre Vermögen der Zellen durch die verschiedenen Halogene wohl in verschiedenem Grade beeinflußt werden. Um den Einfluß des Wassergehaltes zu eliminieren, nahmen wir dann isosmotische Lösungen, also isosmotisch-isotonische und isosmotisch-anisotonische Lösungen von NaCl, NaBr und NaJ. Die Fluoride wurde nicht in die Versuche aufgenommen, weil es sich schon früher gezeigt hatte, daß die Phagocyten in Fluornatrium lahmgelegt werden.[1]) Die Lösungen wurden nach der folgenden Tabelle bereitet:

NaBr 1,58% und NaJ 2,30% sind isosmotisch mit NaCl 0,9% (isotonisch),

NaBr 1,76% und NaJ 2,54% sind isosmotisch mit NaCl 1% (hypertonisch),

NaBr 1,94% und NaJ 2,75% sind isosmotisch mit NaCl 1,1% (hypertonisch),

NaBr 1,23% und NaJ 1,79% sind isosmotisch mit NaCl 0,7% (hypotonisch),

NaBr 1,06% und NaJ 1,53% sind isosmotisch mit NaCl 0,6% (hypotonisch).

Versuchsverfahren.

Die Untersuchungen erfolgten wieder ausschließlich mit Pferdeblutleukocyten. Nur wurden die letzteren statt durch

---

[1]) Hamburger und Hekma, diese Zeitschr. 3, 94, 1907.

Defibrinieren und Dekantieren jetzt nach dem von E. Hekma[1]) angegebenen Verfahren abgeschieden, dessen Prinzip darin besteht, daß das Blut aus der Ader in dem gleichen Volum einer isotonischen Kochsalzlösung aufgefangen wird, in der sich 0,4°/₀ citronensaures Natron befindet. Zwar ist das citronensaure Natron nicht ohne Einfluß auf den Umfang der Phagocytose. Dieselbe wird nämlich dadurch herabgesetzt. Diese Herabsetzung jedoch kann wieder vollständig aufgehoben werden, wenn man die Zellen mit isotonischer Kochsalzlösung auswäscht. Die Hekmasche Methode hat zwei große Vorzüge:

1. bekommt man aus dem Citratblut viel mehr Leukocyten als aus dem defibrinierten. Gehen ja beim Defibrinieren eine große Zahl von Zellen zugrunde und darunter eine relativ große Zahl von Phagocyten. In den meisten Fällen stellt es sich dann auch heraus, daß die nach dem Hekmaschen Verfahren erhaltenen Leukocytenaufschwemmungen wenigstens 30°/₀ Phagocyten enthalten; 2. senken sich im Citratblut die roten Blutkörperchen viel schneller und vollkommener als im defibrinierten Blute, so daß die Methode auch viel schneller zum Ziele führt.

Nachdem dann, wie gesagt, das Pferdeblut in der citrathaltigen Kochsalzlösung aufgefangen war und die roten Blutkörperchen sich gesenkt hatten, wurde die gelbe trübe leukocytenreiche Flüssigkeit abgehoben und in einer Runneschen Wasserzentrifuge, die etwa 800 Umdrehungen in der Minute machte, während 3 Minuten zentrifugiert. Nach Abhebung des größten Teils der oberen Flüssigkeit wurde vorsichtig umgeschüttelt, 0,9°/₀ NaCl hinzugefügt, während $2^1/_2$ Minuten zentrifugiert, die Flüssigkeit abgehoben, das Sediment wieder mit 0,9°/₀iger NaCl-Lösung ausgewaschen und endlich die Sedimente der verschiedenen Röhrchen miteinander vermischt. Von der so erhaltenen leukocytenreichen Suspension wurden dann mittels Capillarpipette 0.2 ccm abgemessen und in 10 ccm der zu untersuchenden Lösungen gebracht, um dann in der bekannten Weise[2]) untersucht zu werden. Nur wurden die Leukocytenaufschwemmungen, nachdem sie mit Kohle vermischt waren, nicht 1 Stunde, sondern nur $^1/_2$ Stunde lang der

[1]) E. Hekma, diese Zeitschr. 11, 177. 1908.

[2]) Hamburger und Hekma, diese Zeitschr. 3, 94, 1907.

Körpertemperatur ausgesetzt. Diese Zeit genügte. Und weiter wurde die Leukocyten-Kohle-Suspension nicht mittels eines Motors in einer Kugelpipette geschüttelt, sondern in kleinen zylindrischen, mit Glasstöpseln verschlossenen Gläschen von Zeit zu Zeit nur mit der Hand hin- und herbewegt. Dadurch wird dem Zusammenkleben der Phagocyten besser vorgebeugt. Am Ende wurden die Leukocyten-Kohle-Suspensionen in die Kugelpipette aufgesogen, um in derselben gut vermischt zu werden. Dann wurden Präparate angefertigt.

Wir fangen an mit isosmotisch-isotonischen Lösungen.

1. Isosmotisch-isotonische Lösungen von NaCl, NaBr und NaJ.

Die Lösungen haben 2 Stunden auf die Leukocyten eingewirkt, bevor die Phagocytose ermittelt wird.

Isosmotisch-isotonische Lösungen.

Flüssigkeiten	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
NaCl 0,9%	$\frac{224}{518}$ [1] $\times 100 = 43{,}2\%$
NaBr 1,58%	$\frac{210}{477} \times 100 = 44\%$
NaJ 2,30%	$\frac{3}{600} \times 100 = 0{,}5\%$

Eine genaue Wiederholung dieser Versuchsreihe mit Blut eines anderen Pferdes ergibt folgendes:

Isosmotisch-isotonische Lösungen.

Flüssigkeiten	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
NaCl 0,9%	$\frac{150}{614} \times 100 = 24{,}4\%$
NaBr 1,58%	$\frac{150}{635} \times 100 = 23{,}6\%$
NaJ 2,30%	$\frac{3}{691} \times 100 = 0{,}4\%$

[1]) Diese Zahlen sagen aus, daß von den 518 durchgemusterten Leukocyten 224 Kohle aufgenommen haben. Dieses Resultat, wie auch das der folgenden Versuche, stammt jedesmal von 2 Präparaten.

Aus diesen Versuchen geht hervor:

1. daß in isosmotisch-isotonischen NaCl- und NaBr-Lösungen das phagocytäre Vermögen nahezu das gleiche ist.

Dieses Resultat wird noch betätigt durch Experimente, über die weiter unten die Rede sein wird.

2. In der dem Blutserum isotonischen NaJ-Lösung ist das phagocytäre Vermögen Null. Es ist denn auch in den folgenden Untersuchungen davon abgesehen worden, weitere Experimente mit diesem Halogensalz auszuführen. Es sei hier noch hinzugefügt, daß etwaiges freies Jod in der angewandten NaJ-Lösung chemisch nicht nachweisbar war.

2. Isosmotisch-hyperisotonische Lösungen von NaCl und NaBr.

In dieser Versuchsreihe sind auch noch isosmotisch-isotonische Lösungen beider Salze aufgenommen.

Isosmotisch-hyperisotonische Lösungen.

Flüssigkeiten	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben	Flüssigkeiten	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
NaCl 0,9%	$\frac{169}{412} \times 100 = 41\%$	NaBr 1,58% (isosm. mit NaCl 0,9%)	$\frac{162}{419} \times 100 = 38,6\%$
NaCl 1%	$\frac{193}{598} \times 100 = 32,3\%$	NaBr 1,76% (isosm. mit NaCl 1%)	$\frac{158}{646} \times 100 = 24,4\%$
NaCl 1,1%	$\frac{154}{559} \times 100 = 27,5\%$	NaBr 1,94% (isosm. mit NaCl 1,1%)	$\frac{122}{799} \times 100 = 15,2\%$

Aus dieser Tabelle erhellt, daß bei Steigerung der Kochsalzkonzentration eine bedeutende Erniedrigung des phagocytären Vermögens erfolgt. Durch eine Konzentrationszunahme von 0,9 auf 1% z. B. entsteht eine Abnahme der Phagocytose von $\frac{41-32,3}{41} \times 100 = 21\%$. Das steht ganz in Einklang mit dem, was früher beobachtet wurde.[1]) Viel größer jedoch ist die Abnahme des phagocytären Vermögens, wenn die entsprechende Steigerung der osmotischen Konzentration bei NaBr stattfindet. Durch eine Konzentrationszunahme

[1]) Hamburger und Hekma, Quantitative Studien über Phagocytose II. Diese Zeitschr. 7, 102, 1907.

von 1,58 auf 1,76 % erfolgt eine Abnahme der Phagocytose von $\frac{38,6-24,4}{38,6} \times 100 = 36,8\,\%$.

Dementsprechend führte 1,1 % NaCl eine Abnahme des phagocytären Vermögens von $\frac{41-27,5}{41} \times 100 = 33\,\%$, die isosmotische NaBr-Lösung eine Abnahme von $\frac{38,6-15,2}{38,6} \times 100 = 60\,\%$ herbei.

Wiederholungen des Versuches mit dem Blute zweier anderer Pferde.

Isosmotisch-hyperisotonische Lösungen.

Flüssigkeiten	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben	Flüssigkeiten	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
NaCl 0,9 %	$\frac{120}{300} \times 100 = 40\,\%$	NaBr. 1,58 % (isosm. mit NaCl 0,9 %)	$\frac{160}{409} \times 100 = 39,1\,\%$
NaCl 1 %	$\frac{148}{441} \times 100 = 33,5\,\%$	NaBr 1,76 %	$\frac{160}{609} \times 100 = 26,2\,\%$
NaCl 1,1 %	$\frac{141}{557} \times 100 = 25,3\,\%$	NaBr 1,94 %	$\frac{149}{730} \times 100 = 20,4\,\%$
NaCl 0,9 %	$\frac{169}{343} \times 100 = 49,2\,\%$	NaBr 1,58 %	$\frac{111}{229} \times 100 = 48,4\,\%$
NaCl 1 %	$\frac{165}{382} \times 100 = 43,9\,\%$	NaBr 1,76 %	$\frac{122}{563} \times 100 = 21,9\,\%$
NaCl 1,1 %	$\frac{162}{445} \times 100 = 33,5\,\%$	NaBr 1,94 %	$\frac{107}{487} \times 100 = 21,9\,\%$

Die Versuchsresultate, die in diesen beiden Tabellen ihren Ausdruck finden, sind in vollkommener Übereinstimmung mit den in der vorigen Tabelle verzeichneten. Auch hier wieder eine bedeutende Abnahme des phagocytären Vermögens, wenn die NaCl-Lösung schwach hyperisotonisch gemacht wird, aber eine noch viel erheblichere Abnahme des phagocytären Vermögens, wenn die NaBr-Lösung eine isosmotische Konzentrationssteigerung erfährt.

Man darf daraus schließen, daß eine hyperisotonische Bromnatriumlösung nicht nur durch Wasserentziehung die Phagocytose beeinträchtigt, sondern auch durch Eintritt von Bromionen in die Phagocyten.

Hiermit ist dann auch weiter die Permeabilität von Phagocyten für Brom nachgewiesen.

3. Isosmotisch-hypisotonische Lösungen von NaCl und NaBr.

Wie ersichtlich, sind wie in den vorigen auch in diesen Versuchsreihen noch isosmotisch-isotonische Lösungen beider Salze aufgenommen.

Aus der Tabelle ist ohne weiteres ersichtlich, mit welchen Lösungen die Versuche angestellt worden sind.

Isosmotisch-hypisotonische Lösungen.

Flüssigkeiten	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben	Flüssigkeiten	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
NaCl 0,9%	$\frac{171}{302} \times 100 = 56,6\%$	NaBr 1,58% (isosm. mit NaCl 0,9%)	$\frac{264}{466} \times 100 = 56,8\%$
NaCl 0,7%	$\frac{122}{286} \times 100 = 42,6\%$!	NaBr 1,23% (isosm. mit NaCl 0,7%)	$\frac{167}{467} \times 100 = 35,8\%$
NaCl 0,6%	$\frac{205}{463} \times 100 = 44,2\%$	NaBr 1,05% (isosm. mit NaCl 0,6%)	$\frac{109}{415} \times 100 = 26,3\%$

Die Tabelle lehrt folgendes:

1. In hypisotonischen NaCl-Lösungen ist die Phagocytose geringer als in der isotonischen Lösung.

So z. B. ist in der 0,6%igen NaCl-Lösung das phagocytäre Vermögen um $\frac{56,6 - 44,2}{56,6} \times 100 = 21\%$ geringer als in der 0,9%igen.

2. Macht man ähnliche Vergleiche zwischen den entsprechenden NaBr-Lösungen, also zwischen der 1,58%igen und der 1,05%igen, so ergibt sich ein viel größerer Unterschied als 21%, nämlich $\frac{56,8 - 26,3}{56,8} \times 100 = 53,7\%$.

Was in dieser Versuchsreihe noch auffällt, ist der relativ niedrige Wert der Phagocytose in 0,7% NaCl. Dieselbe ist hier 42,6. Es muß hier ein Irrtum vorliegen. Auch das Verhalten der in der Suspension vorhandenen roten Blutzellen gab Veranlassung anzunehmen, daß an dieser Lösung etwas fehlte. Wir haben demnach im folgenden Experiment eine neue 0,7%ige NaCl-Lösung angewandt und für den Vergleich auch noch die alte herangezogen.

Wiederholung des vorigen Versuches.

Flüssigkeiten	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben	Flüssigkeiten	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
NaCl 0,9%	$\frac{170}{315} \times 100 = 53,9\%$	NaBr 1,58%	$\frac{315}{608} \times 100 = 51,8\%$
NaCl 0,7% (Lösung der vorigen Tabelle)	$\frac{106}{259} \times 100 = 40,9\%$!		
NaCl 0,7% (neue Lösung)	$\frac{123}{260} \times 100 = 47,3\%$	NaBr 1,23%	$\frac{152}{459} \times 100 = 33\%$
NaCl 0,6%	$\frac{187}{453} \times 100 = 41,3\%$	NaBr 1,05%	$\frac{92}{419} \times 100 = 21,9\%$

Auch hier wieder dasselbe Resultat:

In der isosmotisch-isotonischen NaCl- und NaBr-Lösung nahezu das gleiche phagocytäre Vermögen (53,9% und 51,8%). In den isosmotisch-hypisotonischen NaCl- und NaBr-Lösungen dagegen ein großer Unterschied, der um so stärker zum Ausdruck kommt, je nachdem die Lösungen schwächer oder stärker sind. Wo die NaCl-Lösung 0,7% beträgt und die isosmotische NaBr-Lösung also 1,23%, ist die durch Br und Cl herbeigeführte Differenz 47,3 — 33 = 14,3%.

Wo die isosmotischen Lösungen schwächer sind, beträgt die Differenz 41,3 — 21,9 = 19,4%.

Man kann diesen Differenzen kaum etwas anderem zuschreiben als einer schädlichen Wirkung von in die Phagocyten eingedrungenen Bromionen.

4. Inwieweit kann die durch Brom herbeigeführte Beeinträchtigung der Phagocytose rückgängig gemacht werden?

Wir haben uns diese Frage hauptsächlich vorgelegt, um die in den vorigen Zeilen vertretene Ansicht, wenn möglich, näher zu begründen.

Zu diesem Zweck sind wir folgenderweise vorgegangen:

Es wurde eine Leukocytenaufschwemmung während 2 Stunden dem Einfluß von 1,23% NaBr (hypisotonisch) und 1,05% (hypisotonisch) unterworfen. Dann wurde ein Teil der so behandelten 2 Portionen Leukocyten in 1,58% NaBr zurückgebracht. Dadurch lagen dieselben dann wieder in einer isotonischen NaBr-Lösung. Sie hatten also ihren normalen Wassergehalt

wieder zurückbekommen. Was sie dann etwa an phagocytärem Vermögen noch eingebüßt hatten, war nicht mehr dem Wasserverlust, sondern der geänderten chemischen Zusammensetzung zuzuschreiben.

Um letztere aber womöglich vollständig wiederherzustellen, hatten wir die Leukocyten statt in 1,58 % NaBr in das eigene Serum zurückgebracht. Darin konnten die Brom-Phagocyten durch Wiederaufnahme verlorener und durch Abgabe aufgenommener Ionen ihre ursprüngliche chemische Zusammensetzung zurückgewinnen.

Aus technischen Gesichtspunkten aber hat die Anwendung von Serum immer etwas Unangenehmes, denn in demselben backen die Phagocyten oft zusammen, und es wird nicht selten sehr schwierig, genau zu ermitteln, welche wohl Kohle und welche nichts aufgenommen haben. An Stelle von Serum haben wir dann Ringersche Flüssigkeit[1]) gebraucht. Es wurde also folgenderweise experimentiert:

Von einer mit 0,9 % NaCl ausgewaschenen Leukocytenaufschwemmung werden 3 Serien A, B und C von 4mal 0,1 ccm Suspension abgemessen. Von jeder dieser Serien A, B und C wird

0,1 ccm versetzt mit 3 ccm NaBr 1,58 %
0,1 „ „ „ 3 „ „ 1,23 %
0,1 „ „ „ 3 „ „ 1,05 %
0,1 „ „ „ 3 „ Ringersche Lösung.

Man läßt 2 Stunden einwirken.

Serie A. Nach der Einwirkung von 2 Stunden wird bei Serie A Kohle hinzugefügt. Dann werden die Gemische während $^1/_2$ Stunde dem Einfluß der Körpertemperatur ausgesetzt und von den Leukocyten mikroskopische Präparate angefertigt.

Serie B. Während der $^1/_2$ stündigen Einwirkung von Bruttemperatur und Kohle auf Serie A wird von Serie B die Flüssigkeit entfernt und, was die drei ersten betrifft, durch 3 ccm 1,58 % NaBr ersetzt, die vierte von neuer Ringerscher Lösung. Diese Flüssigkeiten wirken 1 Stunde ein. Nachher verweilen sie wieder $^1/_2$ Stunde im Brutschrank mit Kohle.

Serie C. In allen 4 Suspensionen wird nach 2stündiger Einwirkung die obere Flüssigkeit durch Ringersche Lösung ersetzt. Nach $^1/_2$ stündiger Einwirkung von Kohle bei Bruttemperatur werden mikroskopische Präparate angefertigt.

---

[1]) Die Zusammensetzung war folgende: Aq. dest. 1000, NaCl 8, KCl 0,075, $CaCl_2$ 0,1, $NaHCO_3$ 1.

Die Resultate der Zählungen waren folgende:

Serie A.

Einfluß isotonischer und hypisotonischer NaBr-Lösung.

Auf die Leukocyten wirkten ein	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
a) NaBr 1,58% (isot. mit NaCl 0,9%)	$\frac{172}{467} \times 100 = 36,8\%$
b) NaBr 1,23% (isot. mit NaCl 0,7%)	$\frac{175}{435} \times 100 = 40,2\%$ (?)
c) NaBr 1,05% (isot. mit NaCl 0,6%)	$\frac{82}{270} \times 100 = 30,3\%$
d) Ringersche Flüssigkeit	$\frac{213}{492} \times 100 = 43,2\%$

Man sieht deutlich, daß in der hypisotonischen 1,05%igen NaBr-Lösung (c) die Phagocytose viel geringer ist als in der isotonischen (a). Und weiter konstatiert man, daß in der isotonischen NaBr-Lösung das phagocytäre Vermögen dem in der Ringerschen Flüssigkeit (d) zurücksteht. Im Versuch c mit der 1,23%igen NaBr-Lösung muß ein etwaiger Fehler eingeschlichen sein.

Es erhebt sich jetzt die Frage, inwieweit bekommen die von den hypisotonischen NaBr-Lösungen beeinflußten Leukocyten ihr ursprüngliches phagocytäres Vermögen zurück, wenn man dieselben in 1,58% NaBr zurückbringt.

Die isotonischen NaBr-Lösungen wirkten während 1 Stunde ein. Es stellte sich aber heraus, daß die Leukocyten, die, wie erwähnt, früher bereits 2 Stunden in den Salzlösungen gelegen hatten, in den beiden hypisotonischen NaBr-Lösungen zu viel gelitten hatten, um abermals ein neues Zentrifugieren mit darauffolgender 1stündiger Einwirkung von 1,58% NaBr ertragen zu können, ohne sich in erheblichem Maße geschädigt zu erweisen. Viele Leukocyten in Versuch b und c waren sehr blaß geworden. Es schien, daß gerade viele Nicht-Phagocyten zugrunde gegangen waren. Dadurch läßt es sich erklären, daß, wie die folgende Tabelle lehrt, gerade in den mit hypisotonischen NaBr-Lösungen behandelten Leukocyten die Phagocytose relativ so hoch war, eigentlich viel zu hoch.

Da, wo isotonische NaBr-Lösung auf die Leukocyten eingewirkt hatte, war die Phagocytose unverändert geblieben.

Man vergleiche das a der vorigen Tabelle mit dem a der jetzt folgenden.

Serie B.

Zurückführung in isotonische NaBr-Lösung.

1. Auf die Leukocyten wirkten während 2 St. ein (Vgl. vorige Tabelle.)	2. Nach der in Spalte 1 erwähnten 2stündigen Einwirkung werden die Leukocyten gebracht in frische Lösungen von	3. Prozentgehalt der unter 2 behandelten Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
a) NaBr 1,58 % (isot. mit NaCl 0,9 %)	NaBr 1,58 %	$\frac{129}{344} \times 100 = 37{,}5\,\%$
b) NaBr 1,23 % (isot. mit NaCl 0,7 %)	NaBr 1,58 %	$\frac{172}{239} \times 100 = 71{,}9\,\%$ (!)
c) NaBr 1,05 % (isot. mit NaCl 0,6 %)	NaBr 1,58 %	$\frac{125}{251} \times 100 = 49{,}9\,\%$ (!)
d) Ringersche Flüssigkeit	Ringersche Lösung	$\frac{123}{288} \times 100 = 42{,}7\,\%$

Um zu untersuchen, inwieweit die Veränderungen, die die Leukocyten nach 2stündiger Einwirkung genannter Lösungen a, b, c und d erfahren hatten, wieder rückgängig gemacht werden konnten, wurden die Leukocyten in Ringersche Lösung übergeführt.

Serie C.

Zurückführung der Brom-Leukocyten in Ringersche Lösung.

1. Auf die Leukocyten wirkten während 2 St. ein	2. Nach der in Spalte 1 erwähnten Einwirkung werden die Leukocyten übergeführt in	3. Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
a) NaBr 1,58 % (isot. mit NaCl 0,9 %)	Ringersche Lösung	$\frac{185}{408} \times 100 = 45{,}3\,\%$
b) NaBr 1,23 % (isot. mit NaCl 0,7 %)	„ „	$\frac{148}{324} \times 100 = 45{,}6\,\%$
c) NaBr 1,05 % (isot. mit NaCl 0,6 %)	„ „	$\frac{143}{310} \times 100 = 46{,}1\,\%$
d) Ringersche Lösung	„ „	$\frac{227}{510} \times 100 = 45{,}3\,\%$

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß die Leukocyten, die während 2 Stunden selbst in hypisotonischen NaBr-Lösungen verweilt haben, ihr phagocytäres Vermögen vollständig zurückbekommen, wenn sie in eine Lösung zurückgebracht werden, in der sie ihre ursprüngliche Zusammensetzung, jedenfalls nahezu, zurückgewinnen können.

Wir haben nun weiter gleichartige Versuche mit hypertonischen NaBr-Lösungen angestellt, aber mit dem Unterschiede:

1. daß jetzt die NaBr-Lösungen nicht 2, sondern nur 1 Stunde auf die Leukocyten einwirken konnten. Das genügt auch;

2. wurden die mit den NaBr-Lösungen behandelten Leukocyten nicht in Ringersche, sondern in 0,9%ige Kochsalzlösung zurückgebracht. Damit bezweckten wir, bestätigen zu können, daß das Chlorion einen anderen Einfluß auf die Phagocytose hatte als das Bromion.

Es wurden dann 4 Lösungen angefertigt: 0,9% NaCl, 1,58% NaBr, 1,76% NaBr und 1,93% NaBr.

In diesen Lösungen verblieben die in gewöhnlicher Weise angefertigten NaCl-Leukocytensuspensionen 1 Stunde. Die folgende Tabelle wird ohne weitere Erklärung deutlich sein.

Einfluß hyperisotonischer NaBr-Lösungen.

Auf die Leukocyten wirkten ein	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
a) NaCl 0,9%	$\frac{186}{399} \times 100 = 46{,}6\%$
b) NaBr 1,58% (isosm. mit NaCl 0,9%)	$\frac{140}{441} \times 100 = 31{,}7\%$(?)
c) NaBr 1,76% (isosm. mit NaCl 1%)	$\frac{149}{411} \times 100 = 36{,}2\%$
d) NaBr 1,93% (isosm. mit NaCl 1,1%)	$\frac{111}{372} \times 100 = 29{,}1\%$

Aus dieser Tabelle ergibt sich in Übereinstimmung mit früheren Versuchen in vorliegender Arbeit, daß hyperisotonische NaBr-Lösungen die Phagocytose bedeutend herabsetzen.

Bei der isotonischen 1,58%igen NaBr-Lösung muß ein Versuchsfehler vorliegen: der Prozentgehalt 31,7 ist viel zu klein. Nach den übereinstimmenden Resultaten früherer Versuche[1]) sollte dieser Prozentgehalt dem der 0,9%igen NaCl-Lösung entsprechen, also etwa 46% sein.

Nachdem die Leukocyten während 1 Stunde dem Einfluß der 4 genannten Lösungen ausgesetzt gewesen waren, wurden dieselben in eine 1,58%ige, das heißt in eine der 0,9%igen NaCl-Lösung isosmotische NaBr-Lösung übergebracht und darin während 1 Stunde belassen. Dann wurde wieder Kohle hinzugefügt und das phagocytäre Vermögen ermittelt.

[1]) Vgl. oben die 1 c, 2 c, 3 c, 4 c, 5 c und 6 e der Tabellen.

Die Brom-Leukocyten werden in isotonische NaBr-Lösung zurückgebracht.

1. Auf die Leukocyten wirkten während 1 Std. ein:	2. Nach der in Spalte 1 erwähnten 1stündigen Einwirkung werden die Leukocyten gebracht in frische Lösungen von:	3. Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
a) NaCl 0,9%	NaCl 0,9%	$\frac{184}{395} \times 100 = 46{,}8\%$
b) NaBr 1,58% (isosm. mit NaCl 0,9%)	NaBr 1,58%	$\frac{300}{665} \times 100 = 45{,}1\%$
c) NaBr 1,76% (isosm. mit NaCl 1%)	NaBr 1,58%	$\frac{230}{512} \times 100 = 45\%$
d) NaBr 1,93% (isosm. mit NaCl 1,1%)	NaBr 1,58%	$\frac{264}{668} \times 100 = 39{,}5\%$

Man sieht, daß, wenn die Leukocyten in einer 1,76%igen NaBr-Lösung verweilt haben, Zurückführung in eine isotonische NaBr-Lösung das phagocytäre Vermögen fast vollkommen wiederherstellt (von 36,2 auf 45,8%).

Ist die hyperisotonische Lösung ein wenig konzentrierter, nämlich isosmotisch mit 1,1% NaCl, so kehrt das ursprüngliche phagocytäre Vermögen keineswegs annähernd zurück; es steigt nur an von 29,1 auf 39,5%.

Es ist jetzt die Frage, welchen Wert bekommt das phagocytäre Vermögen der Leukocyten, nachdem dieselben nach 1 stündigem Aufenthalt in den genannten Lösungen a, b, c und d, statt in eine isotonische NaBr-Lösung, in eine isotonische NaCl-Lösung zurückgebracht werden.

Die Brom-Leukocyten werden in eine isotonische NaCl-Lösung zurückgebracht.

1. Auf die Leukocyten wirkten während 1 Std. ein: (Vgl. vorige Tabelle)	2. Nach der in Spalte 1 erwähnten 1stündigen Einwirkung werden die Leukocyten in 0,9%ige NaCl-Lösung gebracht	3. Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
a) NaCl 0,9%	0,9%ige NaCl-Lösung	$\frac{181}{381} \times 100 = 47{,}5\%$
b) NaBr 1,58% (isosm. mit NaCl 0,9%)	0,9%ige NaCl-Lösung	$\frac{112}{244} \times 100 = 46{,}1\%$
c) NaBr 1,76% (isosm. mit NaCl 1%)	0,9%ige NaCl-Lösung	$\frac{162}{350} \times 100 = 46{,}2\%$
d) NaBr 1,93% (isosm. mit NaCl 1,1%	0,9%ige NaCl-Lösung	$\frac{256}{563} \times 100 = 45{,}4\%$

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß, wenn den mit NaBr-Lösungen behandelten Leukocyten die Gelegenheit geboten wird, Br-Ionen gegen Chlor-Ionen auszutauschen, das phagocytäre Vermögen steigt. Insbesondere kommt das zum Ausdruck nach Einwirkung der 1,93⁰/₀igen NaBr-Lösung.

Bei allen diesen Untersuchungen werden wir stets wieder an die Beobachtung von Hedin erinnert, auf die auch früher bereits hingewiesen wurde,[1]) daß nämlich die roten Blutkörperchen das gleiche Volum in isosmotisch-isotonischen Lösungen verschiedener Salze besitzen, nicht aber in isosmotisch-anisotonischen, und daß die Abweichungen desto größer sind, um so mehr die isosmotischen Lösungen von den isotonischen abweichen. Wir sind mit dieser Erscheinung noch beschäftigt.

Auch mit Bezug auf die Entwicklung von Eiern hat J. Loeb[2]) einen verschiedenen Einfluß isosmotisch-anisotonischer Lösungen beobachtet. Diese Erscheinung war jedoch auf einen Unterschied in der Diffusionsgeschwindigkeit der verschiedenen Stoffe durch die Eier zurückzuführen.

Zusammenfassung.

Die Hauptergebnisse vorliegender Arbeit lassen sich folgenderweise zusammenfassen:

1. Läßt man auf Leukocyten eine hypertonische oder hypotonische, also im allgemeinen eine anisotonische Salzlösung einwirken, so wird das phagocytäre Vermögen in erheblichem Maße herabgesetzt. Für diese Herabsetzung sind zwei Momente verantwortlich zu machen:

a) die Änderung des Wassergehalts in den Phagocyten;

b) die Modifikation in der chemischen Zusammensetzung der Zelle, welche hauptsächlich durch einen Austausch von Ionen herbeigeführt wird. Ist die Salzlösung eine der Zellenart fremde, wie z. B. NaBr, so werden fremde Ionen in die Phagocyten eindringen, andere den Phagocyten zugehörende Ionen werden die Zellen verlassen.

2. Der Grad der Beeinträchtigung des phagocytären Vermögens, welches die Zellen durch letzteres Moment (Ionenaustausch) erfahren, hängt wieder von zwei Momenten ab:

a) von der Natur der neuen eingedrungenen Ionen;

b) von dem Umfang des Austausches.

---

[1]) Hamburger und Hekma, diese Zeitschr. 9, 281, 1908.

[2]) J. Loeb, diese Zeitschr. 11, 144, 1908.

So zum Beispiel zeigt sich das Jodion giftiger als das Bromion.

3. **Je mehr die Salzlösung von der isotonischen abweicht**, also je stärker anisotonisch dieselbe ist, **desto ausgiebiger erweist sich der Ionenaustausch.**

Ist die Salzlösung auch dem Blutserum vollkommen isotonisch, so ist dieser Austausch zu einem Minimum reduziert.

Daß aber der Ionenaustausch auch in isotonischen Lösungen dennoch besteht, geht u. a. daraus hervor, daß eine dem Blutserum isotonische NaJ-Lösung für die Phagocyten sehr schädlich ist und eine isotonische NaBr-Lösung nicht ganz indifferent.

4. Durch diese Untersuchungen ist zu gleicher Zeit die Permeabilität lebender Blutzellen für Anionen aufs neue sicher gestellt.

Studien in der Chlorophyllgruppe. VI.

Von

L. Marchlewski.

Bestimmung des Chlorophylls in Pflanzenteilen.

Von

H. Malarski und L. Marchlewski.

(Eingegangen am 7. Februar 1910.)

Es sind mehrere Methoden zur Bestimmung des Chlorophylls in Pflanzenteilen denkbar. Die genaueste wäre natürlich diejenige, die auf dem Extinktionskoeffizienten des rein isolierten Chlorophylls basieren könnte. Die Isolierung des absolut reinen phytolhaltigen Chlorophylls, das, wie es scheint, das am meisten verbreitete ist, ist bis jetzt leider nicht gelungen, und es liegt daher nahe, vorderhand die Bestimmungen des Extinktionskoeffizienten auf ein Derivat des Chlorophylls anzuwenden, das dem Chlorophyll noch am nächsten steht. Ein solches liegt im Chlorophyllan (Phyllogen, Phäophytin) vor. Im hiesigen Laboratorium wurden seit längerer Zeit Bestimmungen der quantitativen Absorptionen verschiedener Chlorophyllane vorgenommen, und einige vorläufige Bestimmungen auch bereits publiziert.[1]) Letztere wurden jedoch ausdrücklich nur als allgemein orientierend betrachtet, da sie mit einer ungenügenden Apparatur erhalten wurden. Es wurden daher damals auch hauptsächlich nur die direkt im König-Martensschen Apparate beobachteten Winkelwerte angegeben. In einzelnen Fällen gelangten auch Koeffizienten zur Berechnung, wobei die

---

[1]) Diese Zeitschr. 10, 131, 1908.

genannten Winkelwerte unhalbiert zur Anwendung kamen.[1]) In der vorliegenden Mitteilung soll die Methode kurz angegeben werden, der wir uns bedienen, um den Chlorophyllgehalt in „Chlorophyllanwerten“ zu bestimmen, und die uns bei gewissen Untersuchungen, die sich auf die Biologie des Chlorophylls beziehen, behilflich ist. Die Methode beruht darauf, daß zunächst aus der untersuchten Pflanzenart das Chlorophyll extrahiert und aus dem Extrakt Chlorophyllan (Phäophytin, Phyllogen) durch Oxalsäure- oder Salzsäurezusatz in der Kälte gefällt wird. Das Präparat wird nach der Schunckschen Methode gereinigt (in Chloroform gelöst und nach dem Verdampfen des größten Teils des Chloroforms mit Alkohol gefällt). Das Präparat wird sodann bis zum konstanten Gewicht getrocknet und eine bestimmte Menge in Chloroform gelöst. Für diese Lösung wird der Extinktionskoeffizient bestimmt. Nun wird das zu untersuchende frische oder getrocknete Material mit Alkohol in der Siedehitze erschöpft, der Auszug auf ein kleines Volum konzentriert und nach dem Erkalten mit Salzsäure oder Oxalsäure versetzt. Sobald die Chlorophyllanbildung vollendet ist, wird auf ein bestimmtes Volum mit Chloroform verdünnt und der Extinktionskoeffizient experimentell bestimmt. Eine einfache Rechnung gibt schließlich den Chlorophyllgehalt ausgedrückt im „Chlorophyllanwert“.

Folgendes Beispiel erklärt die Methode:

1 g bei 110° getrocknetes Chlorophyllan aus Brennesseln wurde in 500 ccm Chloroform gelöst. 1 Volumen dieser Lösung wurde dann mit 3 Volumen Chloroform verdünnt und in 1 mm Schicht mit Hilfe der neuen Absorptionsgefäße von Martens-Grünbaum bestimmt, und zwar in Na-Licht.

Versuch 1.

Lösung rechts	Lösung links
31,8°	42,6°
151,0°	138,5°
210,8°	223,0°
330,8°	318,4°

$$\alpha_1 = 84{,}3^\circ$$
$$\alpha_2 = 60{,}4^\circ.$$

[1]) Ähnlich wie in allen früheren Abhandlungen, in denen Extinktionskoeffizienten zitiert wurden.

Versuch 2.

Lösung rechts	Lösung links
31,0°	42,7°
150,0°	138,6°
211,0°	223,0°
330,4°	318,5°

$$\alpha_1 = 84,3^\circ$$
$$\alpha_2 = 60,8^\circ.$$

Im Mittel $\alpha_1 = 84,3^\circ$
$\alpha_2 = 60,6^\circ.$

$$E = \frac{\log \operatorname{tg} 42,15^\circ - \log \operatorname{tg} 30,30^\circ}{0,1} = \frac{0,19004}{0,1} = 1,9004$$

Aus dem gefundenen Extinktionskoeffizienten berechnet sich der Absorptionskoeffizient:

$$\frac{c}{E} = \mathrm{A} = \frac{0,5_{(1000)}}{1,9004} = 0,2631.$$

Dieser Absorptionskoeffizient läßt sich nun weiter wie folgt verwerten: 41,88 g pulverisierter, getrockneter Blätter werden mit siedendem Alkohol erschöpft und die alkoholische Lösung auf 50 ccm eingeengt. Ein Zusatz von 5 ccm 10°/₀iger alkoholischer Lösung von HCl verwandelte das Chlorophyll sehr bald in Chlorophyllan. Das Gemisch wurde in einen $^1/_2$ l-Kolben mit Chloroform gespült und zur Marke aufgefüllt. 50 ccm dieser Lösung wurden mit 50 ccm Chloroform verdünnt und in 1 mm Schicht im Natriumlicht untersucht.

Erhalten wurden:

Versuch 1	$\alpha_1 = 83,35$,	$\alpha_2 = 62,50$
„ 2	$\alpha_1 = 83,55$,	$\alpha_2 = 62,50$
Im Mittel	$\alpha_1 = 83,45$,	$\alpha_2 = 62,55$

$$E^1 = \frac{\log \operatorname{tg} 41,72^\circ - \log \operatorname{tg} 31,27^\circ}{0,1} = \frac{0,16677}{0,1} = 1,6677$$

Folglich haben wir

$$\frac{c^1{}_{(1000)}}{E^1} = 0,2631; \quad c^1{}_{(1000)} = 1,6677 \times 0,2631 = 0,439$$

d. h. die Menge des aus den untersuchten Blättern extrahierten Chlorophylls entspricht 0,439 g Chlorophyllan, oder der „Chlorophyllanwert" dieser Blätter ist 1,048°/₀.

Mit Hilfe dieser Methode läßt sich auch genau bestimmen, mit welchen Verlusten man bei der Herstellung des Chloro-

phyllans im großen zu rechnen hat, wie das nachstehende Beispiel zeigt.

Bei einem Versuch wurden durch direkte Fällung 23,53 g Chlorophyllan erhalten. Das Filtrat, das 8300 ccm entsprach, ergab bei der Untersuchung: $\alpha_1 = 105,65$, $\alpha_2 = 50,55$.

$$E_2 = \frac{\log \operatorname{tg} 52,83 - \log \operatorname{tg} 25,28}{0,1} = \frac{0,44602}{0,1} = 4,4602$$

$$c_2 = 0,2631 \times 4,4602 = 1,17 \text{ g}_{(1000)}$$

d. h. in Lösung verblieben 9,711 g Chlorophyllan.

Es muß hervorgehoben werden, daß die Untersuchungen von Chlorophyllanen verschiedener Pflanzen, wie zu erwarten war,[1] nicht identische Werte für A gaben. Es scheint auch, daß die Chlorophyllane derselben Pflanze in gewissen Grenzen variieren können, und zwar in Abhängigkeit vom Standort der Pflanze, dem Boden usw., Verhältnisse, die später in einer ausführlichen Abhandlung besprochen werden sollen.

[1]) Vgl. diese Zeitschr. 21, 545, 1909.

Die Theorie des Haftdruckes (Oberflächendruckes) und die Resorptionsvorgänge besonders im Magendarmkanal.

Von

J. Traube.

Erwiderung an die Herren Török[1]) und Buglia[2]).

(Aus der Technischen Hochschule zu Charlottenburg.)

(Eingegangen am 8. Februar 1910.)

In einer Reihe von Abhandlungen[3]) wurde von mir eine Theorie entwickelt, die von dem Satze ausging, daß die Richtung und Geschwindigkeit der Osmose durch die Differenz der Oberflächenspannungen der durch die Membran getrennten Flüssigkeiten bestimmt sei.

Diese **Oberflächenspannungsdifferenz** wurde als die **treibende Kraft der Osmose** angesehen.

---

[1]) **Török**, Die Bedeutung der Oberflächenspannung bei den Resorptionsvorgängen. Centralbl. f. Physiol. 20, 206, 1906. Prof. **Koranyi**, in dessen Laboratorium die Arbeit ausgeführt wurde, und der Verf. unterließen es leider, mir einen Abdruck zu senden, so daß ich von dieser und aus demselben Grunde von anderen Arbeiten, die sich speziell mit meiner Theorie beschäftigen (**Kunoff**, Inaug.-Diss., Berlin 1907 und **Billard**, Compt. rend. Soc. Biol. 1904 bis 1907) erst jetzt Kenntnis erhielt.

[2]) **Buglia**, Hängt die Resorption von der Oberflächenspannung der resorbierten Flüssigkeit ab? Diese Zeitschr. 22, 1, 1909.

[3]) **Traube**, Pflügers Archiv 105, 541 u. 559, 1904; 123, 419, 1908; Verhdl. d. Deutsch. phys. Ges. 10, 880 bis 930, 1909; Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 86, 1596 u. 2185, 1909; diese Zeitschr. 10, 371, 1908 und 16, 182, 1909 und Zeitschr. Ion 1, 311 bis 354, 1909. — **Traube** und **Blumenthal**, Arch. f. experim. Pathol. u. Ther. 2, 117, 1905; ferner **Bickel**, Deutsch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 28. — **Kunoff**, Die Oberflächendrucktheorie, Inaug.-Diss., Berlin 1907. — E. **Zuntz**, Arch. di Fisiologia 7, 137, 1909.

Während ich in meinen ersten Abhandlungen (Pflügers Archiv 105) die Wirkungen der Membranen zwar hervorhob (l. c. S. 567), aber einstweilen nicht eingehender berücksichtigte, habe ich dann später (vgl. l. c. 123) mit Rücksicht auf die Membranwirkungen[1]) obigen Satz näher erörtert.

Ein bekanntes Prinzip von Gibbs besagt, daß Stoffe, welche die Oberflächenspannung eines Lösungsmittels erniedrigen, das Bestreben haben, sich in der Oberfläche anzusammeln und umgekehrt.

Unter Einführung eines, wie mir scheint, für die Theorie der Lösungen recht bedeutungsvollen Begriffes, des Haftdruckes, gab ich jenem Prinzip die Form: Je mehr ein Stoff die Oberflächenspannung eines Lösungsmittels vermindert oder erhöht, um so geringer oder größer ist sein Haftdruck. Stoffe von geringem Haftdruck in Wasser sind beispielsweise die Ester, Äther, die gewöhnlichen Alkohole und Fettsäuren, Stoffe von großem Haftdrucke die Salze, in der Mitte stehen Stoffe, wie Harnstoff, Mannit, Glycerin usw. Wie es nun einen Haftdruck eines Stoffes am Lösungsmittel gibt, dessen Maß u. a. sein Einfluß auf die Oberflächenspannung desselben ist, so gibt es auch einen Haftdruck der Bestandteile der Lösung in bezug auf die Membran, und diese Haftdrucke, die für dieselbe Flüssigkeit an beiden Seiten der Membran sehr verschieden sein können, wenn die Membran beiderseits chemisch oder physikalisch verschieden ist, sind natürlich für die Richtung und Geschwindigkeit der Osmose mitentscheidend.

Die Geschwindigkeit, mit der ein diosmierender Bestandteil einer Lösung diosmiert, ist um so größer,

1. je geringer sein Haftdruck in der Lösung ist,

2. je größer sein Haftdruck zu den Bestandteilen an der ihm zugekehrten Seite der Membran ist,

3. je größer sein Haftdruck in bezug auf das an der anderen Seite der Membran befindliche Lösungsmittel ist,

---

[1]) Vgl. über Membranwirkungen die vortrefflichen Arbeiten von Zangger, Vierteljahresz. d. Naturf.-Ges., Zürich, 52, 500, 1907. Es bieten sich vielfache Berührungspunkte zwischen den Ansichten von Zangger und mir.

4. je geringer die Gegenkraft von der andern Seite ist, d. h. vor allem, je größer die Oberflächenspannung der zweiten Flüssigkeit und je geringer deren Haftdruck bzw. derjenige ihrer Bestandteile an der entsprechenden Seite der Membran ist.

Maßgebend für die Richtung und Geschwindigkeit der Osmose[1]) ist somit nicht nur der Haftdruck der diosmierenden Stoffe in den Lösungen, sondern auch der Haftdruck an oder in der Membran oder mit anderen Worten: die Differenz der Oberflächenspannungen zwischen Membran und den Bestandteilen der Lösungen.

Während die osmotische Theorie von van't Hoff bei weitem nicht die Erwartungen erfüllt hat, die man in der Physiologie und Pathologie auf sie setzte,[2]) war es mir bisher nicht möglich, einen einzigen in jene Gebiete gehörigen Vorgang zu finden, der mit der neuen, weit umfassenderen Theorie des Haftdruckes in Widerspruch stände, und selbst auf die Gefahr hin, als unbescheiden[3]) zu gelten, spreche ich hiermit die Ansicht aus, daß diese Theorie berufen sein dürfte, ein überraschendes Licht auf die allerverschiedenartigsten, die Organismen betreffenden Vorgänge zu werfen, ja selbst der klinischen Medizin gute Dienste zu leisten.

Der allgemeinste Fall der Osmose liegt vor, wenn die Membran beiderseits heterogen ist und die Lösungen, insbesondere auch die Lösungsmittel, zu ihren beiden Seiten verschieden sind. Die beiden maßgebenden Oberflächenspannungen setzen sich dann aus mindestens vier verschiedenen Haftdrucken zusammen. Erfreulicherweise vereinfachen sich die Vorgänge in der Physiologie insofern, als wir es zunächst fast ausschließlich mit wässerigen Lösungen zu tun haben, dann aber bei den pflanzlichen osmotischen Vorgängen noch in der Weise, daß die Gegenwart der Lipoide in den Membranen nicht so störend wirkt wie im

---

[1]) Vgl. Pflügers Archiv 123, 424.

[2]) Vgl. auch Zangger, l. c.

[3]) Wenn ich meinen Standpunkt nunmehr in meinen Arbeiten weitaus nachdrücklicher betonen werde als bisher, so ist dies einer natürlichen Reaktion gegenüber dem Umstande zuzuschreiben, daß man anscheinend in bestimmten Kreisen meiner engeren Fachgenossen in Deutschland meine Arbeiten glaubt am besten widerlegen zu können, indem man sie — totschweigt. Ich bin allerdings eingebildet genug, zu glauben, daß dies dieses Mal nicht möglich sein wird.

Tierkörper und daher der Haftdruck der Lösungsbestandteile an beiden Seiten der Membran häufig als gleich betrachtet werden kann.

Wenn wir das System Wasser, Pergament, absol. Alkohol betrachten, so geht die Richtung der Osmose vornehmlich vom Wasser zum Alkohol, da der Haftdruck des Wassers in bezug auf die Membran größer ist als derjenige des Alkohols.[1]) Hier ist also die Richtung der Osmose keineswegs gegeben durch die Differenz der Oberflächenspannungen der Flüssigkeiten gegen Luft. Sobald wir aber den Alkohol mit Wasser genügend verdünnen, kehrt sich die Richtung der Osmose in allen Fällen, wo eine beiderseits homogene und zusammengesetzte Membran vorliegt, sofort um, und es diosmiert die Lösung mit geringerer Oberflächenspannung in die Flüssigkeit mit größerer Oberflächenspannung. So ist bei pflanzlichen Membranen, soweit dieselben nicht einseitig lipoidreich sind, zu erwarten, daß allgemein die Richtung und Geschwindigkeit der Osmose von der Differenz der Oberflächenspannungen der beiden wässerigen Lösungen bzw. der Haftdrucke der Bestandteile in der Weise abhängt, daß die Strömung nach der Richtung größerer Oberflächenspannung erfolgt. Auch im tierischen Körper geht, sowohl bei normalen wie pathologischen Vorgängen, meist die Strömung von der Flüssigkeit mit geringerer Oberflächenspannung zu derjenigen mit größerer Oberflächenspannung; so vom Magen und Darm zum Blute, vom Blute zum Urin, vom Blute zu Ascites (vgl. Traube und Blumenthal, Bickel, Kunoff, Billard). Mir war es möglich, mit Hilfe des Herrn Dr. Katzenstein bei einem Falle von Hydrocele die Richtung der Strömung durch Einspritzen von Stoffen von geringem Haftdrucke zu ändern; dasselbe gelang Billard[2]), auf dessen Arbeiten ich erst jetzt aufmerksam wurde, durch Einspritzen von Galle in das Fruchtwasser des Foetus.

Ich habe aber bereits in meinen ersten Veröffentlichungen (Pflügers Archiv 105, 568) darauf hingewiesen, „daß, wenn beispielsweise eine Membran an der einen Seite lipoidhaltig ist, an der anderen nicht, der Fall eintreten könnte, daß der Oberflächendruck durch jenen Lipoidgehalt nicht nur wesentlich geändert wird, sondern sogar sein Vorzeichen ändert und die

---

[1]) Beim Trinken starker alkoholischer Getränke, auch Einnehmen mancher öligen und ätherischen Essenzen, die fest die Wandung umkleiden, ist dies zu beachten. Vgl. auch Billard, l. c.

[2]) Billard, Compt. rend. Soc. Biol. 1904 bis 1907. Es ist gewiß sehr beachtenswert, daß etwa gleichzeitig mit mir Billard denselben theoretischen Gedanken von dem Einflusse der Oberflächenspannung auf die Resorptionsvorgänge aussprach und in einer Reihe vortrefflicher Arbeiten (gemeinsam mit Dieulafé u. a.) bewahrheitete. In allen wesentlichen Punkten sind Billard und ich einer Meinung; indessen meine Theorie ist doch auf viel breiterer Grundlage aufgebaut als die Theorie Billards.

Richtung der Osmose dadurch umgekehrt wird." Ich habe erinnert an die Wirkung des Chloroform- oder Öltropfens, den man in eine Capillarröhre einführt, in der sich Wasser befindet. Die Oberflächenspannung an der Grenzfläche Lipoid-Wasser ist wesentlich geringer als etwa an der Grenzfläche Protoplasma-Wasser, und so kann man sich nicht wundern, wenn infolge des großen Lipoidgehalts an der Innenfläche etwa des Darms bei den bekannten Versuchen von Voit und Bauer, Heidenhain und Reid das Blutserum und Blutplasma schnell resorbiert wurde, ganz abgesehen davon, daß durch die Sekretion der Darmsäfte (vgl. Traube, Török, E. Zuntz) Stoffe in den Darm gelangen, welche die Oberflächenspannung von dessen Inhalt stark vermindern. Ganz die gleichen Momente sind zweifellos bei den Resorptionsvorgängen durch die Haut zu beachten. Alle die Schwierigkeiten, die dem Verständnis der Hautresorptionsvorgänge sich entgegenstellen, sobald man, wie etwa Höber[1]), die osmotische Theorie van't Hoffs den Betrachtungen zugrunde legt, fallen in nichts zusammen, sobald man sich von den hier erörterten neuen Gesichtspunkten leiten läßt.

Den Ausgangspunkt meiner Theorie bildeten die plasmolytischen Untersuchungen Overtons[2]) an Pflanzenzellen und die hiermit übereinstimmenden Ergebnisse desselben hochverdienten Forschers über den Eintritt von Wasser und gelösten Stoffen in Muskeln.[3])

Die Übereinstimmung im Gange der osmotischen Geschwindigkeiten und Capillaritätskonstanten ist so groß, daß man sich fast darüber wundern muß, denn zum mindesten bei den Muskeln kommt ja außer dem Haftdrucke der wässerigen Phase auch derjenige in bezug auf die stark lipoidhaltige Membran in Betracht. Wenn die Übereinstimmung trotzdem besteht, so folgt hieraus, daß sich meist eine Reziprozität der Haftdrucke eines Stoffes in Wasser und der lipoidhaltigen, mehr aber noch der protoplasma-

---

[1]) Höber, Physik. Chem. d. Zellen u. Gewebe sowie das Kapitel Hautresorption. Handb. d. physikal. Chem. u. Med., Koranyi u. Richter, 1.

[2]) Pflügers Archiv 105, l. c. und Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 86, 1909.

[3]) Koranyi und Richter, Handb., l. c. 1, 435.

tischen Membran geltend macht. Gewiß nicht ausnahmslos, aber meist ist der Haftdruck eines Stoffes in der physiologischen Membran um so größer, je geringer derselbe in der wässerigen Phase ist.

Auch für die Osmose in roten Blutkörperchen fand Hedin[1]), daß Neutralsalze, Aminosäuren, Zucker, Hexite nicht, oder nicht erheblich eindringen, Erythrit langsam, Glycerin rascher, aber nicht so rasch wie einwertige Alkohole, Aldehyde, Ketone, Äther. Bei meinen diesbezüglichen[2]) hämolytischen Untersuchungen gerade in bezug auf die zuletzt genannten lipoidlöslichen Stoffe fanden sich alsdann gewisse Abweichungen der osmotischen Geschwindigkeit von den Capillaritätskonstanten der wässerigen Phase, die zweifellos auf die Nichtberücksichtigung der Haftdrucke in der lipoiden Phase zurückzuführen sind.

Für das Eindringen der Lösungen in das stark lipoidhaltige Seeigelei gelten, wie ich gezeigt habe,[3]) ganz dieselben Betrachtungen. Die stärkste parthenogenetische Wirksamkeit entfalten Stoffe, wie Amylen und Fettsäuren, und zwar wirkt Buttersäure stärker als Essigsäure, schwächer wirken die Oxysäuren, noch schwächer die zweibasischen Säuren der Bernsteinsäurereihe und am schwächsten die starken Mineralsäuren.

Auch für den Eintritt der Lösungen in die Nervensubstanz gilt dasselbe Gesetz. Wie ich gezeigt habe,[4]) geht die narkotische Wirkung der Narkotica direkt den Capillaritätskonstanten der wässerigen Lösungen parallel, indem in homologen Reihen sogar ebenso wie für Hämolyse und gewisse parthenogenetische Versuche ein quantitatives Capillaritätsgesetz befolgt wird. In allen diesen Fällen liegen aber die Verhältnisse wegen des Lipoidgehaltes der Zellen nicht so einfach. Es war mir daher das Erscheinen einer Arbeit von A. J. Brown[5]) besonders wertvoll, der die Osmose zahlreicher Lösungen durch die Hülle von Gerste untersucht hat. Da es sich hier um eine verhältnismäßig einfache Membran handelt, in der von der Lipoidwirkung abgesehen werden

---

[1]) Hedin, vgl. Höber, Physikal. Chem. d. Zellen u. Gewebe, 2. Aufl., S. 184, 1906.

[2]) Diese Zeitschr. 10, 371, 1908.

[3]) Diese Zeitschr. 16, 182, 1909.

[4]) Pflügers Archiv 105, 555, 1904.

[5]) Brown, Proc. Roy. Soc., Serie B, 81, 81, 1909.

kann, so waren gerade diese Versuche für die Prüfung meiner Theorie sowie auch die bekannte Lipoidtheorie Overtons besonders geeignet, und ich gehe daher etwas näher auf die Ergebnisse dieser wichtigen Arbeit ein.

Brown hat gefunden, daß die unversehrten Hüllen des Samens der Gerste für die Mineralsäuren, wie Salzsäure, Schwefelsäure, sowie für die meisten Salze völlig undurchlässig — also semipermeabel — sind, während andere Stoffe in wässeriger Lösung, wie Essigsäure, Alkohol usw., leicht eindringen. Er bestimmte nun durch sukzessive Wägung einer gegebenen Menge Gerstensamen (je 5 g) die von denselben absorbierte Menge des Wassers bzw. der Lösung, indem die Gerste in die betreffenden Normallösungen eingelegt wurde. Die absorbierte Menge bezeichnet die prozentuale Wassermenge, bezogen auf das Gewicht der trocknen Gerste. In den folgenden Tabellen bedeuten die Zahlen jene absorbierten Wasser- bzw. Lösungsprozente. Unter γ sind die von mir für 15° bestimmten Capillaritätskonstanten der Lösungen daneben gesetzt.

1 Mol auf 1 kg Wasser	Absorbierte Wassermengen nach					
	2 Tagen	4 Tagen	6 Tagen	8 Tagen	11 Tag.	Cap.-Konst. γ mg/mm
KCl	31,2	36,5	36,9	37,3	38,4	7,44
NaCl	30,5	34,2	35,7	37,3	37,2	7,46
NH_4Cl	31,7	34,6	36,4	36,6	37,4	7,45
KNO_3	34,1	38,7	40,5	41,1	41,6	7,42

1 Mol auf 1 kg Wasser	Absorbierte Wassermengen nach					
	2 Tagen	4 Tagen	6 Tagen	8 Tagen	11 Tag.	Cap.-Konst. γ mg/mm
$NaNO_3$	32,5	36,3	37,5	38,7	38,5	7,44
NH_4NO_3	32,3	36,1	38,3	38,4	38,9	7,42
Wasser	43,1	55,6	64,1	68,3	70,0	7,30
Rohrzucker	29,5	34,3	36,2	36,9	38,4	7,50
Dextrose	30,2	35,8	38,1	38,3	39,5	7,42
NaCl	28,1	31,9	34,2	34,4	35,5	7,46

1 Mol in 1 l Lösung	Nach eingetretenem Gleichgewicht	
	Wassermenge	Cap.-Konst. γ mg/mm
Essigsäure	73,8	6,04
Wasser	78,2	7,30
Natriumacetat	39,8	7,34
Cadmiumjodid	54,2	—
Cadmiumchlorid	46,3	—
Cadmiumsulfat	46,0	—
Natriumchlorid	39,8	—

1 Mol auf 1 kg Wasser	Absorbierte Wasser- bzw. Lösungsmenge nach					
	2 Tagen	4 Tagen	7 Tagen	9 Tagen	11 Tag.	Cap.-Konst. γ mg/mm
Wasser	45,0	55,6	65,5	68,9	70,5	7,30
Chlornatrium . .	30,9	34,4	35,8	36,8	36,5	7,46
Glykokoll	—	—	—	—	41,8	7,38
Harnstoff	—	—	—	—	45,5	7,33
Glycerin	—	—	—	—	41,5	7,26
Glykol	—	—	—	—	52,7	7,04
Aldehyd	—	—	—	—	66,9	—
Glykolsäure . . .	37,7	45,0	52,8	57,8	63,5	7,10
Milchsäure . . .	42,1	46,3	54,0	55,3	58,2	—
Ammoniak . . .	55,8	70,1	—	—	—	—

1 Mol auf 1 kg Wasser	Absorbierte Wasser- bzw. Lösungsmenge nach					
	2 Tagen	4 Tagen	7 Tagen	9 Tagen	11 Tag.	Cap.-Konst. γ mg/mm
Wasser	45,0	54,9	66,9	68,7	69,6	7,30
Essigsäure . . .	53,3	67,6	68,3	68,5	68,0	6,04
Äthylalkohol . .	43,4	54,9	66,0	68,7	69,6	5,67
Aceton	—	—	—	—	68,2	5,51
Äthylacetat . . .	63,9	70,7	72,8	72,1	71,8	$^1/_2$norm. 4,23

Während die Salze im allgemeinen und die Mineralsäuren, ebenso Weinsäure und die Zuckerarten nicht in die Gerste eindringen, diosmieren Stoffe, wie Glycerin, Harnstoff und Glykol, langsam in die Hülle hinein, Stoffe, wie Essigsäure, Propionsäure, Alkohol, Aceton und Äthylacetat, sehr schnell.

Glykolsäure ($\gamma = 7{,}10$) tritt langsam ein; von Salzen wurde nur beim Cadmiumjodid im Gegensatz zu den übrigen Cadmiumsalzen etwas Cadmium in der Gerste nachgewiesen, und bemerkenswert war besonders das leichte Eindringen von Quecksilberchlorid ($\gamma = 7{,}23$) und Quecksilbercyanid (im Gegensatz zum Sulfate und Nitrate) in die Gerste. Ganz besonders aber ist hervorzuheben das sehr schnelle Eindringen der (stark dissoziierten) Trichloressigsäure ($\gamma = 4{,}82$), da deren Verhalten wie andrerseits dasjenige von Zucker usw. zeigt, daß die elektrolytische Dissoziation nicht das antagonistische Verhalten der Stoffe bedingt.

Die Versuchsergebnisse von Brown bestätigen nun in jeder Beziehung meine Theorie.

Bei den Kalium-, Natrium- und Ammonium- wie auch Cadmiumsalzen erkennen wir deutlich die Reihenfolge der Haftdrucke:

$$NO_3 < Cl;\ J < Cl < SO_4;\ NH_4,\ K < Na.$$

Quecksilberchlorid ist dasjenige Salz, für das ich den geringsten Haftdruck gefunden hatte.[1]) Für die Nichtleiter

[1]) Vgl. Verhdl. d. Deutsch. phys. Ges. 10, 890, 1909.

ergibt sich eine fast vollständige Parallelität der osmotischen Geschwindigkeiten mit den Oberflächenspannungen der Normallösungen (siehe insbesondere die Werte nach 2 Tagen). Auch die Trichloressigsäure verhält sich völlig der Theorie gemäß.

Die Geschwindigkeit, mit der nicht nur diese gelösten Nichtleiter, sondern das Wasser durch die Gerstenhüllen diosmiert, geht meiner Theorie entsprechend parallel den Oberflächenspannungen, und nach 11 Tagen ist annähernd bei den schnell diosmierenden Stoffen der Gleichgewichtszustand erreicht, denn in dem Maße, wie der Konzentrationsunterschied an gelöster Substanz innen und außen geringer wird, wird auch die treibende osmotische Kraft, d. h. der Oberflächendruck, geringer, und es kommt immer mehr der vom Innern der Gerste nach außen wirkende Gegendruck zur Geltung, der um so größer ist, je größer die eingetretene Wasser- bzw. Lösungsmenge ist und die demgemäß da, wo die Stoffe durch die Membran diosmierten, schließlich zu einem Ausgleich der Konzentrationen führen muß, während bei den nicht diosmierenden Salzen dieser Ausgleich des osmotischen Gegendrucks nie erfolgen wird.

Ganz besonders bemerkenswert sind noch die Ergebnisse Browns[1]):

1. Daß wasserfreier Äthylalkohol, Aceton, Äthylacetat usw. nicht in die Gerste diosmieren.

2. Daß in gemischten wässerigen Lösungen im allgemeinen nur diejenigen Stoffe diosmieren, die, auch wenn sie allein vorhanden sind, durch die Gerstenhülle wandern.[2])

Nach dieser neuen, in jeder Hinsicht vortrefflichen Bestätigung meiner Theorie durch die Versuche Browns wollen

---

[1]) Brown hat, um seine Versuchsergebnisse zu erklären, sehr wohl daran gedacht, „that differences in the surface tension of solutions of diffusible and non-diffusible solutes might perhaps be associated in some way with the different behaviour of the two classes of solutes towards the seed coverings“, aber er verwirft diese Annahme, da er offenbar die Capillaritätskonstanten der Lösungen nicht genügend kannte. Mit Recht weist er sowie auch Armstrong in einem daran sich anschließenden Aufsatz darauf hin, daß das Wasseranziehungsvermögen der gelösten Stoffe für die Erklärung der Erscheinungen von größter Bedeutung sei

[2]) Siehe indessen w. u. meine Ausführungen über Haftlockerung.

wir uns nunmehr wieder den tierischen Resorptionsvorgängen zuwenden. Hier haben wir es nicht mehr mit beiderseits homogenen Membranen zu tun, und wie sich die Magen- und Darmmucosa und selbst künstliche Doppelmembranen dieser Art in bezug auf den einseitigen Durchgang der Stoffe verhalten, das hat H. J. Hamburger in dieser Zeitschrift[1]) in einer ausführlichen Experimentalarbeit gezeigt.

Wenn nun Overton[2]) bei seinen Versuchen mit lebenden Muskeln findet, daß beispielsweise dieselben bei der Überführung aus einer 0,7%igen Kochsalzlösung in eine 0,4%ige Kochsalzlösung + 3% Methyl- oder Äthylalkohol fast genau ebensoviel Wasser aufnehmen wie bei der Überführung in 0,4% Kochsalz ohne Alkoholzusatz, so erklärt sich dieses Ergebnis auf Grund von Browns Feststellungen ohne weiteres.

Wie Overton mit Recht annimmt und auch beweist, dringen die Alkohole schnell in die Muskeln ein, indem zunächst zweifellos die Geschwindigkeit des gleichzeitigen Wassereinflusses verschieden ist. Schließlich wird aber die eingetretene Wassermenge, wie bei Brown, mit und ohne Alkohol annähernd die gleiche sein müssen.

Wir kommen nun zu den Vorgängen im Darmkanal. Es sind hier vier Arbeiten zu besprechen: diejenige von Hedin[3]), von Frl. Katzenellenbogen[4]), von Török[5]) und von Buglia[6]). Hedin bestimmt u. a. die Geschwindigkeit der Osmose verschiedener normaler wässeriger Lösungen von Salzen und Nichtleitern durch eine Membran aus totem Rinderdarm, indem er die betreffenden Stoffe in einer Traubenzuckerlösung von bestimmtem Gehalte löste und nun das Verhältnis der diosmierten Menge an Traubenzucker und den betreffenden Stoffen bestimmte.

---

[1]) Diese Zeitschr. 11, 443, 1908.

[2]) Overton, vgl. Koranyi und Richter, Handb. 1, 435.

[3]) Hedin, Pflügers Archiv 78, 205, 1899; vgl. Koranyi und Richter, Handb. 1, 301 und 302, 1907.

[4]) Katzenellenbogen, Pflügers Archiv 114, 522, 1906 und Koranyi und Richter, Handb. 1, 334, 1907.

[5]) Török, l. c.

[6]) Buglia, l. c.

Dabei ergab sich für die Salze die bekannte Haftdruckreihe.[1]) Die Osmose war

für $Br > NO_3 > Cl > SO_4$ und
für $K > Rb$[2]) $> Na > Li > Mg$.

Die gleichzeitig angestellten Diffusionsversuche führten zu dem bemerkenswerten Ergebnisse, daß die Membran gegenüber der freien Diffusion beschleunigend wirkt auf den Durchgang der Alkalisalze, insbesondere der mit einwertigen Anionen[3]), und mit Recht weist Höber[4]) darauf hin, daß der mehr oder weniger große Quellungszustand der Membran die Durchgangsgeschwindigkeit beeinflußt. Die Alkalihalogenide wirken quellungsbefördernd, das SO_4-Ion sowie Traubenzucker dagegen entquellend.

Hedin hat auch den Traubenzuckerlösungen Nichtleiter zugesetzt, und er findet, daß die osmotische Geschwindigkeit in folgender Reihenfolge zunimmt:

Mannit, Erythrit, Glycerin, Urethan, Glykokoll, Amylenhydrat, Glykol, Harnstoff, Propyl, i-Butyl-, Allyl-, Methyl-, Äthyl-Alkohol. Die Reihe der Haftdrucke ist auch hier unverkennbar.[5]) Bemerkenswert ist, daß die Stoffe von sehr geringem Haftdruck an Wasser, wie die höheren Alkohole sowie Amylenhydrat, nicht so schnell diosmieren, wie sie auf Grund ihrer Stellung in der Haftdruckreihe diosmieren sollten. Aber nach Brown diosmieren wasserfreie Alkohole, Ester usw. gar nicht durch die Gerstenhülle, und gerade jene Stoffe setzen sich ja an der Membran in reinem Zustande fest; die hierdurch bewirkte Versperrung der osmotischen Wege dürfte dazu beitragen, daß derartige schwer lösliche Stoffe, ebenso Essenzen, Öle usw. die Osmose zwar vielfach beschleunigen, aber doch nicht derart, wie dies nach ihrem Haftdruck im Wasser der Fall sein sollte.

Die Versuche Hedins bilden somit im großen und ganzen eine vortreffliche Bestätigung meiner Theorie, und wir kommen nun zu den auf Veranlassung von Höber bewirkten

---

[1]) Vgl. meine etwa gleichzeitig erscheinende Arbeit in Pflügers Archiv.

[2]) Über die Stellung des Rubidiums u. Caesiums bei physiologischen Vorgängen vgl. Höber, Zeitschr. f. physikal. Chem. 70, 134, 1909.

[3]) Für das SO_4-Ion ist die Beschleunigung entsprechend dem großen Haftdruck sehr gering. Vgl. über die beschleunigende Wirkung der Membranen meine Ausführungen in Pflügers Archiv 123, 422.

[4]) Vgl. Koranyi und Richter, Handb. 1, 302.

[5]) Vgl. meine demnächst erscheinende Mitteilung in Pflügers Archiv über die Reihe der Haftdrucke usw.

Versuchen von Frl. **Katzenellenbogen** (l. c.). Diese Versuche sind nach verschiedenen Richtungen sehr bemerkenswert.

Es werden in die Dünndarmschlinge lebender Hunde außer Kochsalzlösung verschiedene lipoidlösliche und nicht lipoidlösliche Stoffe in äquivalenten Lösungen eingeführt und nach bestimmter Zeit die nicht resorbierte Flüssigkeitsmenge sowie der restierende Kochsalzgehalt bestimmt. Eines der verschiedenen Protokolle sei hier abgedruckt.[1])

	Eingeführt ccm	Resorptionsdauer	Restierend ccm	Restierend % NaCl
Harnstoff + 0,45 % NaCl	50	10′	23	—
Glykokoll + " " "	50	10′	39	0,351
Harnstoff + " " "	50	10′	20	0,472
Aceton + " " "	50	10′	15,5	0,631
Glykokoll + " " "	50	10′	33,5	0,316
Harnstoff + " " "	50	10′	14,5	0,521
Glykokoll + " " "	50	10′	36	0,329
Aceton + " " "	50	10′	14	—

Die Konstante der Oberflächenspannung ist bei 15° für normale wässerige Lösungen von Glykokoll $\gamma = 7{,}40$, von Harnstoff $= 7{,}33$ und von Aceton $= 5{,}51$. **Demgemäß nimmt mit der Theorie im Einklang die Resorptionsgeschwindigkeit zu von Glykokoll : Harnstoff : Aceton.** Aus den weiteren Protokollen der Arbeit folgt, daß Methyl-, Propyl- und Amylalkohol eine erhebliche Beschleunigung der Resorption des Wassers herbeiführen, ebenso wirken Acetamid, Glykol, Glycerin beschleunigend; Glycerin wirkt in dieser Hinsicht stärker als Mannit und Erythrit, Acetamid stärker als Glykokoll, und wenn auch, aus dem Grunde, der S. 330 dieser Arbeit angedeutet wurde, Amylalkohol kaum schneller resorbiert wird als Methylalkohol, und Glycerin nicht schneller als Monochlorhydrin, so folgt doch aus der Gesamtheit der Ergebnisse, daß **die Resorptionsgeschwindigkeit der wässerigen Lösung durch Stoffe, welche die Oberflächenspannung stark erniedrigen, erhöht wird.** Dabei übt offenbar der Umstand einen Einfluß aus, ob die betreffende Substanz genügend löslich ist, um die Membran ungehindert zu passieren, oder ob sie, wie etwa Amylalkohol, sich großenteils in der Membran festsetzt.

Noch wichtiger sind aber die Versuche der Arbeit nach einer anderen Richtung. Man erkennt aus umstehender Tabelle, daß

[1]) Koranyi und Richter, Handb. 1, 334.

der restierende Kochsalzgehalt zunimmt von Glykokoll : Harnstoff : Aceton und ganz ebenso von Glycerin : Monochlorhydrin (z. B. 0,397 : 0,517 %), von Mannit : Erythrit : Glycerin (z. B. 0,365 : 0,402 : 0,516 %), von Glykokoll : Acetamid (0,41 : 0,61 %). Daraus folgt ganz allgemein, daß:

die Resorption des Chlornatriums und anderer Salze durch den Zusatz von Nichtleitern (sowie auch anderer Salze) in hohem Maße beeinflußt wird. Die Beschleunigung bzw. die Resorption ist um so größer, je größer der Haftdruck des betreffenden Zusatzes ist.

Es handelt sich hier um eine vortreffliche Bestätigung unserer Theorie, durch die gleichzeitig die osmotische Theorie erschüttert wird und zahlreiche der wichtigsten biologischen Vorgänge, für die bisher jedes Verständnis fehlte, eine leichte Aufklärung finden.

Die Erklärung für die Feststellungen Katzenellenbogens ist nicht schwierig. Nach meinen früheren Arbeiten[1]) wird die Löslichkeit eines Stoffes im Wasser durch einen gleichzeitig vorhandenen anderen meist vermindert, und zwar geht dieser löslichkeitsvermindernde Einfluß völlig parallel den Haftdrucken. Der seine Löslichkeit bedingende Haftdruck des Kochsalzes wird vermindert insbesondere durch Salze von großem Haftdrucke, wie Natriumsulfat usw., aber auch durch Nichtleiter insbesondere von großem Haftdrucke, wie Zuckerarten, Glykokoll usw. und ebenso durch Stoffe von geringem Haftdrucke, wie Amylalkohol. Diese Löslichkeitsverminderung des Chlornatriums ist auf eine Haftlockerung zurückzuführen, und diese reziproke Haftlockerung der gelösten Stoffe ist von allergrößtem biologischem Interesse.

Für den haftlockernden Einfluß der Stoffe mit großem Haftdrucke (Salze, Zuckerarten) auf Stoffe mit kleinerem Haftdrucke (Alkohol, Ester usw.) gilt das, was ich in den Verhdl. d. physikal. Ges. **10**, 896 gesagt habe, für den haftlockernden Einfluß von Stoffen mit kleinem Haftdrucke auf zunächst schwer lösliche Salze das, was Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **42**, 2185

---

[1]) Traube, Verhdl. d. physikal. Ges. 10, 896, 1909 und Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 2185, 1909.

mitgeteilt wurde.[1]) Wenn wir also zu beiden Seiten einer Pergamentmembran dieselbe Kochsalzlösung haben, so wird das osmotische Gleichgewicht sofort gestört, wenn wir etwa an der einen Seite 1 Mol Alkohol und an der anderen 1 Mol Rohrzucker hinzufügen.

Diese Annahme ist grundverschieden von derjenigen van't Hoffs, der bekanntlich nur die Zahl der Teilchen (den Kapazitätsfaktor der Lösungsenergie) berücksichtigte, nicht aber den Haftdruck (den Intensitätfaktor der Lösungsenergie).[2]) Man sieht sofort, daß es außer von der Zahl der Teilchen auch von der Gegenwart und Qualität der dritten Stoffe abhängt, ob die osmotische Stromrichtung mit oder gegen die Richtung des „osmotischen Gefälles" stattfindet. Haben wir eine konzentrierte von einer verdünnten Kochsalzlösung durch eine Membran getrennt und die osmotische Strömung folgt den Gesetzen vant' Hoffs, so genügt ein kleiner Zusatz eines zweiten Stoffes, um die Stromrichtung umzukehren und das Gleichgewicht zu verschieben.

Die bekannte Tatsache, daß überall im Organismus (bei der Nierensekretion, dem Übergange von Blut zur Lymphe usw.) Konzentrierungen von Salzen und Nichtleitern stattfinden, für welche die osmotische Theorie keine Erklärung weiß, verliert im Lichte der hier dargelegten Anschauungen ihr mystisches Dunkel. Eine große Rolle spielen hierbei allerdings auch die Vorgänge, die sich infolge der Oberflächenwirkung an der Grenze der beiden Phasen: Membran und Lösung abspielen. Man denke

---

[1]) Aceton vermindert den Haftdruck des Kochsalzes zum Wasser am meisten, Glykokoll am wenigsten. Ebenso diosmiert Aceton am schnellsten und reißt, wie Browns Versuche beweisen, eine große Wassermenge mit, und zwar eine größere als Harnstoff und noch größere als Glykokoll. Da die Haftlockerung des Kochsalzes in Wasser wächst von Glykokoll : Harnstoff : Aceton, so nimmt die Arbeit zur Trennung von Kochsalz und Wasser in derselben Reihenfolge ab, und man kann sich dann nicht wundern, daß die restierenden Salzmengen von Aceton : Harnstoff : Glykokoll abnehmen.

[2]) In besonderen Arbeiten, die demnächst in physikalischen Zeitschriften (siehe auch Pflügers Archiv) erscheinen werden, will ich näher ausführen, inwieweit bei verdünnten Lösungen von der Berücksichtigung des Haftdruckes abgesehen werden kann. Es wird sich eine Brücke finden lassen, die von den alten Anschauungen zu meinen neueren hinüberführt.

u. a. an Liebreichs toten Raum[1]), die Membran zieht an und stößt ab, sie analysiert die Lösung und trennt die gelösten Bestandteile mehr oder weniger vom Lösungsmittel gemäß den einzelnen Haftdrucken. Die infolge der Oberflächenwirkungen von seiten der Membranen bewirkten selektiven Tätigkeiten sind nicht wunderbarer als die zahlreichen Versuchsergebnisse Goppelsroeders[2]) über die analysierende Tätigkeit der in eine Lösung eingetauchten Papierstreifen. Neben dieser Wirkung des „toten Raumes" ist es aber insbesondere auch die gegenseitige Haftlockerung der gelösten Stoffe, welche die osmotischen Konzentrierungen beeinflußt.

Diese Haftlockerung ist der vornehmlichste Grund für die Wirkung der Salze bei der Ausfällung von Äthylacetat oder von Eiweiß aus wässeriger Lösung, oder für die Agglutination der Blutkörperchen und Bakterien. Das sind alles kausal verwandte Vorgänge, nur darf man nicht etwa annehmen, daß die Haftlockerung eines Eiweißteilchens bei Zusatz von Salz zu seiner Lösung erst im Moment seiner Ausscheidung stattfindet, sondern dieselbe ist vorhanden lange bevor der Salzzusatz hinreicht, dieselbe unserem leider nicht ultramikroskopischen Auge wahrnehmbar zu machen. Das folgt aus den Capillaritätsmessungen von Billard[3]), Baeyer[4]) und mir[5]) an wässerigen Lösungen von beispielsweise gallensauren Salzen, Alkohol unter Zusatz von Kochsalz. Kochsalz erhöht die Oberflächenspannung des Wassers, aber es erniedrigt in hohem Maße die Oberflächenspannung der wässerigen Lösung eines Stoffes von geringem Haftdruck. Diese Wirkung von Salzen mit Nichtleitern ist eine reziproke.

Hiernach wird es verständlich, weshalb Alkaloide bei Gegenwart von Salzen giftiger wirken,[6]) Quecksilberchlorid bei Gegenwart von Kochsalz antiseptischer wirkt; weshalb Stoffe von geringem Haftdruck in Wasser, wie das Diphtherietoxin[7]), nur

---

[1]) Liebreich, Zeitschr. f. physikal. Chem. 5, 528, 1890.
[2]) Goppelsroeder, Capillaranalyse, Basel 1906.
[3]) l. c.
[4]) Baeyer, diese Zeitschr. 13, 238, 1908.
[5]) Traube, Journ. pr. Chem., N. F. 31, 214, 1885 und Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 2187, 1900.
[6]) Billard, l. c.
[7]) E. Zuntz, l. c.

dann in gegebenen Konzentrationen von Tierkohle adsorbiert werden, wenn Kochsalz zugesetzt wird, sowie auch weshalb die Fettspaltung durch Pankreassaft[1]) durch die Gegenwart bestimmter Salzmengen beschleunigt wird, wenngleich bei diesem letzten Vorgange noch andere Momente mitsprechen.

Wir wollen nunmehr noch auf die Wirkung der Salze bei der Darmresorption eingehen.

Nach den Versuchen von Cohnheim[2]) verschwindet Jodnatrium schnell aus dem Darme der Octopoden, auch Bromkalium verschwindet schnell aus dem Darme und ebenso die Nitrate und Chloride von Kalium und Natrium.

Als besonders auffallend wird es von Höber[3]) bezeichnet, daß nach den übereinstimmenden Versuchen von Wallace und Cushny sowie Frl. Katzenellenbogen das Natriumacetat trotz verschiedener Diffusionsgeschwindigkeit gleich schnell wie Natriumchlorid den Darm verläßt. Langsam verschwinden aus dem Darm nach Mac Callum, Höber sowie Wallace und Cushny[4]) die Salze der Alkalien mit zwei- und mehrbasischen Säuren (wie Sulfat, Tartrat, Phosphat usw.), das Fluorid des Natriums sowie die Salze der alkalischen Erden.

Ich muß gestehen, daß ich eine derartige Übereinstimmung des Verhaltens der Salze mit der Haftdruckreihe (J, CNS $<$ Br $< NO_3 <$ Cl, $C_2H_3O <$ OH, F $< C_2O_4 < C_4H_4O_6 < SO_4 < CO_3 < PO_4 < P_2O_7$) gerade bei den Darmvorgängen nicht erwartet hätte. Gewisse Abweichungen sind ja sicherlich vorhanden, denn nach Höber[5]) ist in bezug auf die Resorptionsgeschwindigkeit die Reihenfolge der Ionen:

$$\mathrm{Fl} < \mathrm{HPO_4}, \mathrm{SO_4} < \mathrm{NO_3} < \mathrm{J} < \mathrm{Br} < \mathrm{Cl} \text{ und}$$
$$\mathrm{Ba} < \mathrm{Mg}, \mathrm{Ca} < \mathrm{Na}, \mathrm{K},$$

indessen Fluor und Barium greifen den Darm an, und die Reihenfolge J, Br, Cl wird nach S. 330 dieser Arbeit verständlich, denn wenn auch das Jodid schneller in die Membran eindringt als das Chlorid, so kann doch der größere Haftdruck der dritten in Betracht kommenden wässerigen Phase: Blut für das Chlorid bewirken, daß dieses leichter aufgenommen und fortgeführt wird.

---

[1]) Terroine, diese Zeitschr. 23, 430, 1910.
[2]) Cohnheim, Zeitschr. f. physiol. Chem. 35, 416, 1902.
[3]) Vgl. Koranyi und Richter, Handb. 1, 325.
[4]) Ebenda, S. 324 sowie Katzenellenbogen, l. c.
[5]) Koranyi und Richter, Handb. 1, 323.

Wir sehen also, daß sowohl in bezug auf die Durchlässigkeit der Darmwand für Nichtleiter wie für Salze sowie Mischungen von Nichtleitern und Salzen Theorie und Erfahrung im allgemeinen in gutem Einklang und sicherlich nicht in Widerspruch stehen.

Die Folgerungen von Buglia und Török aus den Ergebnissen ihrer Versuche sind nun nicht schwer zu widerlegen. Die Versuche beider Autoren wurden an der Darmschlinge von Hunden ausgeführt. Török untersuchte die Geschwindigkeit der Resorption hypotonischer, isotonischer wie hypertonischer Kochsalzlösung bei Zusatz von Oleum amygdalarum und Gummi arabicum, Buglia fügte Stoffe hinzu, wie gallensaure Salze, Seife usw. Da eine Beschleunigung der Resorption nicht beobachtet wurde, so folgerte Buglia, daß die Ergebnisse seiner Arbeit mit meiner Theorie in Widerspruch ständen, während Török sich etwas zurückhaltender aussprach.

Bei Anwendung der hypertonischen Lösungen hatte Török meiner Theorie entsprechend gefunden, daß wegen der Verminderung der Oberflächenspannung der Darmflüssigkeit durch die Zusätze der Zufluß in den Darm wesentlich vermindert wurde.

Indem ich zunächst auf die widersprechenden Ergebnisse der Arbeit von Katzenellenbogen hinweise, halte ich es doch für wahrscheinlich, daß in experimenteller Beziehung alle drei Autoren kein Vorwurf trifft.

Die Herren Buglia und Török haben offenbar (trotz der Peptonversuche Buglias) bei ihren Schlüssen nicht genügend berücksichtigt, daß ganz andere Ergebnisse zu erwarten sind, wenn man etwa eine homogene Membran vor sich hat und die capillaraktiven Stoffe reinem Wasser zusetzt, als wenn man mit einer einseitig stark lipoidhaltigen Darmmembran arbeitet und noch dazu die betreffenden Stoffe in Darmsäften bereits Stoffe vorfinden, welche die Oberflächenspannung stark vermindern. Ich verweise Herrn Buglia auf die von mir erwähnte Wirkung des Öltropfens auf die capillare Steighöhe des Wassers[1]) sowie auf die Ergebnisse der folgenden einfachen stalagmometrischen Versuche.

Ein Stalagmometer, das für Wasser bei 15° die Tropfenzahl = 100 ergab, führte für eine 2,5- bzw. 10%ige Gallenlösung zu den Tropfenzahlen 149 bzw. 182. Darauf wurde die Abtropffläche mit einer dünnen Vaselinschicht überzogen. Die Tropfenzahlen waren nunmehr für Wasser = 213, für 2,5%ige Galle = 210 und für 10%ige Galle = 218.

Und wie hier das Vaselin, so wirken lediglich durch ihre Gegenwart im Darmepithel die Lipoide. Wenn die Oberflächenspannung einer Lösung bereits auf ein Minimum herabgedrückt ist, dann wirken weitere Zusätze capillaraktiver Stoffe bei weitem nicht in dem Maße wie auf eine Wasseroberfläche, die von Luft begrenzt ist.

[1]) Pflügers Archiv 105, 568, 1904.

Und man vergleiche auch die folgenden Tropfenzahlen aus Töröks Versuchen:

Lösungen:	Die reinen Salzlösungen		Die Salzemulsionen	
	vorher	nachher	vorher	nachher
isotonisch	76,5	95	86	82
	76,5	82	86	95,5
hypisotonisch	73	78	87	77,5
	73	85	87	84
hyperisotonisch	71,5	78	83,5	82,5
	71,5	80	83,5	97,5

Man erkennt hieraus einmal den Einfluß der Darmsäfte auf die Oberflächenspannung der reinen Salzlösungen, andererseits auf die Salzölemulsionen. Im ersteren Falle haben wir stets eine Verminderung der Oberflächenspannung, im letzteren Falle nur bei 2 von 6 Versuchen. Es folgt auch hieraus, wie ja auch ohne weiteres aus den Kurven von Buglias Arbeit, daß die ersten Zusätze capillaraktiver Stoffe zum Wasser bei weitem die stärkste Wirkung auf die Oberflächenspannung und Osmose haben. Gewisse Widersprüche mit den Arbeiten von Katzenellenbogen und Hedin dürften sicherlich mit der Wahl der Stoffe zusammenhängen, die insbesondere bei Töröks Versuchen insofern nicht sehr glücklich waren, als für die schwerlöslichen Stoffe das gilt, was früher näher erörtert wurde.

Die Bedeutung der stalagmometrischen Methode.

II. Mitteilung.

Von

J. Traube.

(Aus der Technischen Hochschule zu Charlottenburg.)

(*Eingegangen am 8. Februar 1910.*)

Die Theorien von van't Hoff und Arrhenius verschafften namentlich zwei physikalisch-chemischen Methoden Eingang in die biologischen und medizinischen Wissenschaften; es sind dies die Methode der Gefrierpunktsbestimmung, sowie diejenige der Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit. Dieselbe Bedeutung, die diesen Methoden in Hinsicht auf die osmotische Theorie und die Theorie der elektrolytischen Dissoziation zukommt, dürfte der von mir eingeführten stalagmometrischen Methode in Hinsicht auf die Theorie des Haftdruckes (Oberflächendruckes) zuzusprechen sein.

Die vielfache erfolgreiche Anwendung, die bereits jetzt der einfache Tropfapparat gefunden hat, läßt mir die Prophezeiung nicht zu kühn erscheinen, daß in wenigen Jahren kein physikochemischer Apparat in der Biologie und Medizin mehr verwandt werden wird als gerade das so einfach zu handhabende Stalagmometer.

In bezug auf den Apparat selbst (C. Gerhardt in Bonn) will ich nur bemerken, daß man durch Vergrößerung der Skalenteilung und Verengerung der Röhren, wie dies lbe von jetzt ab erfolgt, eine Genauigkeit bis auf 0,5 Dezitropfen noch bequem erzielen kann, und falls dies z. B. für die Bakteriolog e und die Lehre von den Toxinen erforderlich werden sollte (siehe w. u.), so würde man durch weitere Verfeinerungen, eventuell auch Anwendung eines Thermostaten noch 1 Zentitropfen gut abschätzen können.

Es empfiehlt sich, stets die Tropfenzahl auf ein Normalstalagmometer zu beziehen, das 100 Wassertropfen liefert. Ich nenne den betreffenden Tropfen einen Normaltropfen. Das Stalagmometer ist, wenn der Ausfluß genügend langsam erfolgt, auch als Viscosimeter[1]) zu benutzen.

Was die Bedeutung der stalagmometrischen Methode betrifft, so läßt sich darüber einstweilen folgendes sagen:

Die Arbeiten von Traube und Blumenthal[2]), Billard und Dieulafé[3]), Bickel[4]) und Frl. Kascher[5]), Kunoff[6]), E. Zunz[7]) sowie Ascoli und Izar[8]) weisen darauf hin, daß die klinische Medizin in diagnostischer Beziehung sich voraussichtlich in mancherlei Fällen der Methode wird mit Vorteil bedienen können.

So folgt beispielsweise aus den Arbeiten von Traube und Blumenthal sowie Kunoff (vgl. auch Bickel und Kascher), daß die Tropfenzahl des gesunden Mageninhalts sowie auch diejenige bei leichten Verdauungsstörungen um einen Mittelwert herumschwankt von 118 bis 126 Normaltropfen.

Bei schweren Erkrankungen (Carcinom, Pylorusstenose usw.) wurden dagegen fast immer wesentlich größere Tropfenzahlen der frisch zu untersuchenden Mageninhalte = 126 bis 150 Normaltropfen festgestellt. Eine größere Tropfenzahl führt daher zu dem Verdacht, daß eine schwerere Erkrankung vorliegt, vorausgesetzt, daß kein anormaler Gallengehalt störend wirkt, denn Galle erhöht die Tropfenzahl.

Die zahlreichen Urinuntersuchungen (Traube und Blumenthal, Kunoff, Billard) führten zu dem Ergebnisse, daß normale Urine und alle diejenigen pathologischen Urine, die von gut arbeitenden Nieren abgesondert werden,

---

[1]) Traube, Physik.-chem. Methoden, Hamburg 1894 sowie Burri und Nußbaumer, diese Zeitschr. 22, 90. 1909.

[2]) Traube und Blumenthal, Arch. f. experim. Pathol. u. Therap. 2, 117, 1905.

[3]) Billard und Dieulafé, siehe Compt. rend. Soc. Biol. 1904 bis 1907.

[4]) Bickel, Deutsch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 28.

[5]) Frl. Kascher, Inaug.-Dissert., Berlin 1905.

[6]) Kunoff, Inaug.-Dissert., Berlin 1907.

[7]) E. Zunz u. a., Arch. di Fisiol. 7, 137, 1909.

[8]) Ascoli und Izar, Münch. med. Wochenschr. 1910, Nr. 2.

Tropfenzahlen ergeben, die etwa zwischen den Grenzen 102 bis 115 Normaltropfen sich bewegen. Sobald aber die Nieren schlecht arbeiten (Nephritis mit Peptongehalt, Lebercirrhose, Ovarialkrebs, schwere Pneumonie, Carcinom der Gallenblase, Lysolvergiftungen usw.), wurden Normaltropfenzahlen von 115 bis 140 Tropfen beobachtet.

Die Arbeitsfähigkeit der Nieren und die Oberflächenspannung der Urine gehen, ganz wie die Theorie[1]) dies vorausgesagt hatte, einander parallel. Die Tropfenkurve der täglich untersuchten Urine gibt fast immer ein getreues Bild des Krankheitsverlaufes.

Normales menschliches Serum liefert etwa 109 bis 112 Normaltropfen, dahingegen ergibt urämisches Serum (Bickel, Kascher, Kunoff) 116 bis 118 Normaltropfen.

Ascitesabsonderungen ergeben (Traube und Blumenthal, Kunoff), wie die Theorie dies verlangt, kleinere oder jedenfalls nicht größere Tropfenzahlen als das Blutserum. Durch Einspritzen von Stoffen, welche die Oberflächenspannung vermindern, kann man vorübergehend [Traube und Blumenthal, Billard[2])] der Theorie entsprechend dem Säftestrom umkehren.

Auf die vereinzelten Untersuchungen anderer Körpersäfte, wie Darmsaft, Pankreas [Bickel, Zuntz, Török[3])], Galle [Traube[4])], Muskelgewebesaft (Bickel), sei hingewiesen.

Sehr beachtenswert für die klinische Medizin erscheinen die Anfänge auf dem Toxingebiete.

Toxine wie Tetanus- und Diphtherietoxin, sowie Gifte wie Kobra erniedrigen, wie ich vorausgesagt[5]) und E. Zuntz[6]) bestätigt hat, die Oberflächenspannung sehr erheblich, im Gegensatze zu den Antitoxinen, die zweifellos Stoffe von wesentlich größerem

---

[1]) Vgl. meine Abhandlung, Pflügers Archiv 105, 541 und 559, 190 und 123, 419, 1908, ferner Traube und Blumenthal, l. c.

[2]) Siehe Billards interessanten Versuch betreffend Einspritzung von Galle in das Fruchtwasser. Compt. rend. Soc. Biol. 58, 85. Es wurde eine Umkehrung der Strömung herbeigeführt, gerade wie bei dem von mir veranlaßten Versuche des Dr. med. Katzenstein in Berlin durch Einspritzung von Kaffeeextrakt bei Hydrocele.

[3]) Török, siehe vorhergehende Arbeit.

[4]) Pflügers Archiv 105, l. c.

[5]) l. c. S. 572.

[6]) Zuntz, l. c.

Haftdruck sind. Die Verbindungen von Toxin und Antitoxin (vermutlich auch von Kobra und Lecithin) müssen dagegen wegen der Vergrößerung des Komplexgewichts die Oberflächenspannung noch stärker herabdrücken als die Toxine, und in der Tat haben zuerst Ascoli[1]) und alsdann Izar festgestellt, daß bei Typhus, Tuberkulose (10 Fälle), Lues (14 Fälle) die Verbindung von Antikörper und Antigen mit einer Vergrößerung der Tropfenzahl verbunden ist. In 2 Leprafällen (ohne Lues) mit positiver Wassermannscher Reaktion war dies nicht der Fall, wohl aber in 2 untersuchten Fällen von Leberechinokokken und einem Falle von Anchylostoma duodenale beim Menschen.

Es ist meine Überzeugung, daß in der Lehre der Toxin- und Fermentwirkungen eine exakte Anwendung des Stalagmometers zu mancherlei Ergebnissen führen wird (beispielsweise bei den Kobrauntersuchungen). Dasselbe gilt namentlich auch für die Bakteriologie[2]), wo vielleicht der wichtigste Faktor, von dem die Virulenz der Bakterien abhängt, die Oberflächenspannung des Nährbodens und die Haftdrucke der in demselben enthaltenen Stoffe bisher völlig vernachlässigt wurden.

In der Ernährungslehre und ebenso in der Pharmakologie ist gemäß der Theorie die Oberflächenspannung der Nährstoffe und Heilmittel zum mindesten einer der wichtigsten Faktoren.

Von diesem Standpunkte aus sei namentlich auf die Untersuchung der Milch hingewiesen (Traube und Blumenthal), u. a. auf diejenigen Stoffe, die außer den Fetten vornehmlich die Oberflächenspannung der Milch verringern; ferner auf die sehr verschiedene Oberflächenspannung verdünnter Frauen- und Kuhmilch usw.

Was die Pharmakologie betrifft, so wird meine demnächst in Pflügers Archiv erscheinende Abhandlung über die Haftdrucktheorie, namentlich die Ausführungen über die gegenseitige Beeinflussung der Stoffe bei der Osmose, zeigen, nach welchen allgemeinen und besonderen Prinzipien manche Heilmittel herzustellen sind. Der Begriff der Haftlockerung (siehe

[1]) Ascoli, l. c.

[2]) Traube, diese Zeitschr. 10, 387.

vorhergehende Arbeit) weist darauf hin, daß anscheinend harmlose Zusätze, wie Zucker, bestimmte Salze, Alkohol, ätherische Öle usw., eine ganz bestimmte, oft verstärkende, zuweilen auch schwächende Wirkung von Arzneimitteln wie auch Speisen herbeiführen.

Ähnliche Betrachtungen gelten auch für die Toxikologie und Balneotherapie.[1])

[1]) Auch in der Entwicklungsmechanik knüpfen sich mancherlei Fragen an den Gebrauch des Stalagmometers (vgl. Traube, Parthenogenese, diese Zeitschr. 16, 182). Ferner möchte ich besonders die Herren Botaniker nochmals auf die Bedeutung der Oberflächenspannung und des Haftdruckes hinweisen (Aufsteigen der Säfte).

Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel beim Kinde.

Von

Paul Grosser.

(Aus der Kinderklinik des städtischen Krankenhauses Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 8. Februar 1910.)

In seinem Lehrbuche der physiologischen Chemie sowie in neueren Arbeiten beschäftigt sich Abderhalden[1]) mit der Frage, ob wir berechtigt sind, den Stickstoffumsatz, wie wir ihn aus Stoffwechselversuchen zu berechnen pflegen, mit Eiweißumsatz zu identifizieren. Er kommt zu einem negativen Schluß, den er auf doppelte Weise zu stützen sucht.

Erstens durch einen Versuch an einem Alkaptonuriker,[2]) dessen Stickstoffausfuhr durch Eingabe von 5 l Wasser ganz bedeutend gesteigert wird, während seine Homogentisinsäureausscheidung unverändert bleibt. Da nun bei gleichgroßer Eiweißzufuhr der Faktor N:Homogentisinsäure entsprechend dem konstanten Faktor N:aromatischen Aminosäuren immer gleich bleiben muß, wenn der Harnstickstoff nur aus zerfallenem Eiweißstickstoff besteht, so folgert er mit Recht, daß das Anwachsen dieses Faktors darauf schließen läßt, daß es sich bei dieser N-Ausscheidung nicht um Eiweiß-N sensu strictiori handelt, sondern um nicht als Eiweiß im Körper zurückgehaltene Stickstoffverbindungen.

Die zweite Beweisführung ist eine indirekte. Schon Voit konnte zeigen, daß am 1. Hungertage mehr N ausgeschieden wird als an den folgenden. Er führt es auf die Zersetzung von zirkulierendem im Gegensatz zu Organeiweiß zurück. — Abderhalden meint nun, daß der am 1. Hungertage mehr ausgeschiedene N nicht notwendigerweise Eiweiß-N sein müßte, sondern daß es sich hier um Schlacken-N handeln könnte, der an dem 1. Tage zur Ausschwemmung gelangt, bevor der echte Eiweiß-N angegriffen wird. Er glaubt nun diese Anschauung durch eine Versuchsanordnung beweisen zu können, die darin besteht, daß er den Tieren am letzten Fütterungstage reichlich Wasser verabfolgt, worauf dann die Stickstoffsteigerung am 1. Hungertage ausbleibt. Er schließt daraus, daß durch das Wasser am letzten Fütterungstage aus dem Körper die N-haltigen Schlacken ausgeschwemmt werden, so daß unter diesen Umständen die Stickstoffausscheidung am 1. Hungertage auch

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 59.

[2]) Ibid. 58.

wirklicher Eiweißzersetzung entspricht. Als Voraussetzung seiner Beweisführung nimmt Abderhalden demnach die Steigerung des Urin-N durch Wasserzufuhr. Auf die Frage, ob diese Voraussetzung eine beim Erwachsenen erwiesene Tatsache ist, resp. aus Abderhaldens Tabellen hervorgeht, will ich mich nicht einlassen. Er selbst glaubt es.

Mich beschäftigte vor allem die Frage, ob diese Voraussetzung beim Kinde zutrifft, das im Vergleich zum Erwachsenen sehr große Wassermengen pro Kilogramm Körpergewicht aufnimmt. Wir sehen, daß bei keinem Stoffwechselversuch bei Kindern, besonders bei Säuglingen, auf die Wasserzufuhr Rücksicht genommen wird. Die Kinder bekommen die ihnen gereichten Nahrungsbestandteile in verschiedenen Verdünnungen, so daß oft dieselbe Calorienzufuhr in der doppelten bis dreifachen Flüssigkeitsmenge erfolgt, ohne daß man dem bisher besondere Beachtung geschenkt hätte. Wenn nun die Abderhaldenschen Beobachtungen sich beim Kinde bestätigten, dann würden manche Schlüsse, die die pädiatrischen Forscher aus ihren Stoffwechselversuchen gezogen haben, zu Trugschlüssen werden, und wir könnten kaum noch vom Eiweißstoffwechsel des Kindes sprechen.

Ich habe nun in zwei lang ausgedehnten Stoffwechselversuchen die Einwirkung des Wassers auf den Stickstoffumsatz untersucht.

Tabelle I.

Datum	Nr.	N-Einnahme	Ausgabe		Gesamt	Retention	Flüssigkeitszufuhr	Nahrung in Calorien	Gewicht g
			Urin	Kot					
Mai									
12.-13.	1	3,633	3,1042	0,2518	3,3560	0,2770	750 ccm	525 Cal. als Buttermilch	6250
13.-14.	2	3,633	2,7[illegible]87	0,2518	3,0305	0,5025	750		190
14.-15	3	3,633	3,1500	0,2518	3,4018	0,2312	750		150
15.-16	4	3,633	2,9690	0,2518	3,2[illegible]08	0,4122	750		130
16.-17	5	3,633	3,1123	0,4250	3,5373	0,0957	750		130
17.-18.	6	3,633	2.9670	0,4250	3.3920	0,2410	750		150
18.-19.	7	3,633	2.9481	0,4250	3.3731	0,2529	750		150
19.-20.	8	3,808	2,9045	0,3708	3,2753	0,5327	1000	525 Cal. als Buttermilch mit 1/3 Wasserzusatz	210
20.-21	9	3,808	2,8392	0,3708	3,2100	0,5980	1000		250
21.-22.	10	3,808	2,8921	0,3708	3,2629	0,5351	1000		150
22.-23.	11	3.808	2,9138	0,3708	3,2846	0,5234	1000		180
23.-24.	12	3,808	2,[illegible]422	0,3708	2,8130	0,9950	1000		220
24.-25	13	3,808	2,3275	0,4147	2,7422	1,0658	1000		260
25.-26.	14	3,618	2,0859	0,4147	2,5006	1,1074	1000		270
26.-27.	15	3.808	2,6044	0,3600	2,9644	0,8436	1000		360
27.-28.	16	3,808	2,3650	0,3600	2,7250	1,0830	1000 + 600		300

Tabelle I. (Fortsetzung).

Datum	Nr.	N-Einnahme	Ausgabe Urin	Ausgabe Kot	Gesamt	Retention	Flüssigkeitszufuhr	Nahrung in Calorien	Gewicht g
Mai									
28.-29.	17	0	1,6883	0,1915	1,8798	— 1,8798	300	Tee	6360
29.-30.	18	1,904	2,1801	0,1915	2,3716	— 0,4676	500	260 Cal. d. letzten Nahrung	060
30.-31.	19	2,226	1,5901	0,3072	1,8973	0,3287	500	350 Cal. als Malzsuppe mit Magermilch bereitet	5940
31. Mai bis 1. Juni	20	2,226	1,6890	0,3072	1,9962	0,2298	500		930
1.-2.	21	3,8955	2,2943	0,5610	2,8553	1,0402	850	595 Cal. als Malzsuppe mit Magermilch bereitet	6000
2.-3.	22	3,8955	2,2778	0,5610	2,8588	1,0367	850		190
3.-4.	23	3,8955	2,1363	0,5610	2,8973	0,9982	850		200
4.-5.	24	3,8955	2,6257	0,5610	3,1767	0,7188	850		360
5.-6.	25	3,8955	2,5936	0,4975	3,0911	0,8044	850		380
6.-7.	26	3,8955	2,6208	0,4975	3,1183	0,7772	850		340
7.-8.	27	3,8955	**2,4680**	**0,8100**	**3,2780**	**0,6175**	850 + **800**	dasselbe	480
8.-9.	28	3,8955	**2,6706**	**0,8100**	**3,4806**	**0,4149**	850 + **570**		520
9.-10.	29	0	1,7248	0,1925	1,9173	— **1,9173**	120	Tee	560
10.-11.	30	1,2180	1,1529	0,1925	1,3454	— 0,1274	300 + **700**	240 Cal. als Malzsuppe	060
11.-12.	31	1,2180	1,6369	0,1925	1,8294	— 0,6114	300 + **700**		100
12.-13.	32	1,2180	1,4490	0,1925	1,6415	— 0,4235	300 + **700**		020
13.-14.	33	3,5525	1,8843	0,4965	2,3808	1,2717	875	675 Cal. als Malzsuppe	5940
14.-15	34	3,5525	1,9210	0,4965	2,4175	1,1350	875		6190
15.-16.	35	3,5525	1,9244	0,4965	2,4209	1,1316	875		200
16.-17.	36	3,5525	2,0871	0,4965	2,5836	0,9689	875		390
17.-18.	37	3,5525	2,1684	0,9975	3,1659	0,3866	875		440
18.-19.	38	2,8420	2,1996	0,9975	3,1971	— 0,3551	675		430
19.-20.	39	0	2,0862	0,2880	2,3742	— **2,3742**	250	Tee	480
20.-21.	40	1,6254	2,0185	0,2880	2,3065	— 0,6811	750	350 Cal. als Malzsuppe mit $^1/_3$ Milch	100
21.-22.	41	1,8060	1,6421	0,2880	1,9301	— 0,1241	500		140
22.-23.	42	3,1424	1,8683	0,4393	2,3076	0,8348	850	595 Cal. derselben Nahrung	120
23.-24	43	3,1424	1,9933	0,4393	2,4326	0,7098	850		190
24.-25.	44	3,1424	1,8541	0,4393	2,2934	0,8490	850		260
25.-26.	45	3,1424	2,1328	0,4393	2,5721	0,5703	850		250

I.

7monatiger Säugling mit geringer Rachitis. Sehr frisches Kind mit rosiger Hautfarbe und reichlichem Fettpolster. Das Kind erhält in den einzelnen Perioden qualitativ und (in geringem Umfang) quantitativ verschiedene Nahrung. Die Stühle waren gleichförmig gebunden bis auf die letzten 5 Buttermilchtage, an denen schaumige Stühle entleert wurden. In der Rubrik Flüssigkeitszufuhr ist sowohl die Menge der

Nahrungsflüssigkeit als auch das an bestimmten Tagen, teilweise mit dem Magenschlauch zugeführte, mit Saccharin gesüßte Leitungswasser (letzteres durch fette Buchstaben angegeben) enthalten. Absolut sind diese Wassermengen nicht sehr hoch. Ich fürchtete aber, bei einer Steigerung möglicherweise den Magen zu schädigen und so Versuchsfehler hervorzurufen. Immerhin durfte ich erwarten, daß, wenn überhaupt beim Kinde eine Einwirkung zustande kommen könnte, sich diese auch schon bei den zugeführten Mengen zeigen müßte. Im unten angeführten zweiten Versuche habe ich dann die Mengen so gesteigert, daß auch dieser ev. mögliche Einwand fortfallen muß.

Da der Versuch ursprünglich zu anderen Zwecken als dem vorliegenden angestellt war, und auch länger dauernde völlige Nahrungsentziehung mir ohne Schädigung des Kindes nicht möglich schien, so verzichtete ich auf die Prüfung der Frage, ob die Steigerung der Stickstoffausscheidung am 1. Hungertage durch Wasserzufuhr am letzten Ernährungstage ausgleichbar ist und formulierte meine Frage so: Ist beim Säugling durch ausgiebige ein- oder mehrtägige Wasserzufuhr eine Steigerung der Stickstoffausfuhr zu erreichen?

Betrachten wir unter diesem Gesichtspunkte die Tabelle I, so finden wir am 16. Tage trotz Zufuhr von 600 g Wasser keine Steigerung der N-Ausfuhr, zufälligerweise ist gegen den vorhergehenden Tag die Ausfuhr geringer, die Retention größer. Auch während chronischer, allerdings geringer Wasserzugabe vom 8. bis 16. Tage ist der Stickstoffansatz besser als in der 1. Periode, in der das Kind dieselbe Nährstoffmenge der gleichen Form erhielt. Am 27. und 28. Tage verschlechtert sich auf starke Wasserzufuhr die Stickstoffretention bedeutend, die Gesamtausfuhr nimmt zu. Wenn wir aber die einzelnen Faktoren betrachten, so sehen wir, daß die N-Ausfuhr nur im Kot angestiegen ist. Nun ist aber kaum anzunehmen, daß der Kotstickstoff von dem im Organismus zersetzten herrührt, sondern er ist auf Darmsekrete und (in geringem Maße) auf nicht ausgenutzten Nahrungs-N zu beziehen. Der Harnstickstoff, den wir doch als Maß der N-Zersetzung ansehen, ist an beiden Tagen gegen die Vortage nicht gesteigert. Hierzu kommt noch, daß am 37. und 38. Tage ohne Wasserzufuhr gleichfalls eine Steigung der Kotstickstoffausscheidung erkennbar ist.

Wenn wir die Stickstoffausscheidung an den Hungertagen 17, 29 und 39 miteinander vergleichen, so können wir aus den Diffe-

renzen kaum Schlüsse ziehen. Wir sehen allerdings, daß am 17. und 29. Tage das Stickstoffdefizit gleich, daß es aber am 39. Tage nicht unbeträchtlich größer ist. Trotzdem dieses Mehr zwanglos durch den größeren N-Gehalt des Kotes in dieser Periode erklärt werden könnte, und außerdem der Körper in diesen Tagen in bezug auf Stickstoffretention (vgl. 38. Tag) sehr schlecht gestellt war, so möchte ich doch aus diesen Zahlen keinerlei Urteil fällen, sondern ich möchte das Ergebnis der Untersuchung allein dahin zusammenfassen, daß bei dem von mir untersuchten Säugling durch Wasserzufuhr keinerlei Veränderung der N-Ausscheidung zu erzielen war.

Verhält sich nun das Kind jenseits des Säuglingsalters anders? Diese Frage prüfte ich an einem 4jährigen Knaben mit Alkaptonurie, der aus einer Alkaptonurikerfamilie stammt, und bis auf diese Stoffwechselanomalie vollständig gesund war.

Er wurde auf eine hauptsächlich aus Milch, Kakao, Gries und Zwieback bestehende Kost gesetzt, zu der er grünes Gemüse und Obst in wechselnden Mengen bekam. Diese Ernährung hat den Vorteil, daß das Kind in der Hauptsache eine bestimmte Eiweißart, nämlich das Casein. erhält, so daß der zugeführte Quotient N:aromatischen Aminosäuren gleich bleibt und demgemäß auch im Urin der Zerfall von Eiweiß durch den gleich bleibenden Quotient N:$\overline{H}$ dokumentiert werden muß.

Tabelle II.

	Nr.	N-Einnahme	N-Ausgabe Urin	N-Ausgabe Kot	Retention Gesamt	$\overline{H}$-Aussch.	$\frac{N}{\overline{H}}$	Bemerkungen	Durchschnitt N:H:	Gewicht
Periode I	1	10,6117	6,786	1,3143	2,5114	2,787	2,336			14320
	2	10,8815	7,159		2,4082	2,572	2,784			
	3	11,5527	6,320		3,9184	2,572	2,457			
	4	9,5498	6,257		1,1788	2,831	2,210			
	5	11,9455	7,7640		2,8672	2,520	3,080			
	6	10,0124	6,0550		2,6431	2,566	2,360			
	7	8,5736	5,220		2,0393	1,922	3,420			
	8	9,6154	5,275		3,0211	2,163	2,440			
	9	9,6154	5,341		2,9601	2,489	2,146	1050 Wasser		
	10	9,6154	5,025		3,2761	2,447	2,053	850 „		14300
	11	9,6882	4,611		3,7629	2,505	1,841			
	12	9,6154	5,082		3,2191	2,405	2,113			
	13	9,6570	4,919		3,4237	2,669	1,843			
	14	10,0674	5,045		3,7081	2,492	2,024			
	15	9,9842	4,182		4,4879	2,022	2,060		2,29	14200

Tabelle II (Fortsetzung).

	Nr.	N-Einnahme	N-Ausgabe Urin	N-Ausgabe Kot	Retention Gesamt	H-Aussch.	N/H	Bemerkungen	Durchschnitt N:H	Gewicht
Periode I	16	9,9738	5,897		2,7625	2,624	2,240			
	17	10,0154	4,405		4,2961	1,632	2,706			
	18	9,6750	4,791		3.5697	1,745	2,740			
	19	9,5458	4,902		3,3295	1,996	2,450			14450
	20	9,5874	4,925		3,3481	2,284	2,161	**1000** Wasser		
	21	9,5562	4,400		3,8415	2,268	1,940			14450
	22	9,2660	5,605	1,3143	2,3467	2,402	2,324			
	23	9,5770	5,348		2,9147	2,394	2,234			
	24	7,2616	4,095		1,8523	2,088	1,962	**1000** „		
	25	9,4240	4,503		3,6067	2,730	1,650	**1000** „		14460
	26	9,4448	4,200		3,9305	2,030	2,065	**2050** „		
	27	9,4552	4,253		3,6909	2,040	2,183			
	28	8,1988	5,590		1.2945	2,273	2,460		**2,29**	
Periode II mit Schilddrüsentabletten	29	9,4240	5,028		2,7755	2,463	2,037	1 Tabl. 0,1		14360
	30	9,4240	5,170		2,7970	2,314	2,234	2 „		
	31	9,4962	5,392		2,6472	2,619	2,059	2 „		14350
	32	9,4962	5,210		2,8292	2,199	2,368	2 „		14340
	33	9,1770	5,170		2.5500	2,524	2,051	3 „		
	34	9,4962	3,830		4,2092	1.559	2,457	4 „		14360
	35	9,4962	5,426		2,6132	2,734	1,985	4 „		
	36	9,4962	6,342		1,6972	2,537	2,501	6 „		14470
	37	9,5490	5,764		2,3280	2,807	2,054	8 „		470
	38	9,5490	6,663		1,4290	3,060	2.178	8 „		480
	39	9,5490	6,468		1,6240	2,736	2,364	8 „		280
	40	9,5490	6,683		1,4090	2,820	2,370	8 „		350
	41	9,5490	6,151		1,9410	2,718	2,263	8 „		490
	42	9,5490	6,365		1,7270	2,620	2,430	8 „		480
	43	9.3904	3,586		4,3474	1,470	2,430	10 „		500
	44	9,3904	7,822		0,1114	3.142	2,485	10 „		600
	45	9,3904	7,435	1,457	0,3984	3,279	2,268	10 „		210
	46	9,3904	5,931		2,0024	2,598	2,284	10 „		190
	47	8,9345	6,037		1,4405	2,252	2,681	10 „		13960
	48	9,3904	5,855		2,0784	2,617	2,237	15 „		14100
	49	9,5105	5,278		2,7755	1,980	2,660	15 „		260
	50	9,5105	6,540		2,7885	2,186	2,410	15 „		
	51	9,5105	5,165		2,8885	2,054	2,514	15 „		400
	52	9,5105	6,600		1,8035	2,301	2,717	10 „		100
	53	?	5,372		—	1,706	3,150	10 „ Erbrochen, Nahrung unbest.		100
	54	9,5105	5,655		2,3985	1,660	3,406	10 „		140
	55	9,4390	4,724		3,2580	1,530	3,080	10 „		13980
	56	9.4390	6,114		1,8680	2,136	2,860	10 „	**2,4**	
Periode III mit Zucker	57	9,4390	4,503		3,2860	1,830	2,46	10 Tabl. + 50 g Lactose		13950
	58	9,4390	4,550	1,65	3,2390	2,090	2,18	10 „		760
	59	9,4390	5,056		2,7330	2,258	2,24	10 „		850
	60	9,4390	3,214		4,5750	1,693	1,90	10 „	**2,20**	910

Tabelle II (Fortsetzung).

	Nr.	N-Einnahme	N-Ausgabe Urin	N-Ausgabe Kot	Retention Gesamt	H-Aussch.	N/H	Bemerkungen	Durchschnitt N:H	Gewicht
Periode IV	61	10,0555	6,130		3,7655	2,505	2,45			14070
	62	10,0555	4,806		4,0895	2,223	2,16			13830
	63	10,1371	5,638	1,16	3,3391	2,315	2 44			800
	64	10,0963	5,154		3,7823	2,093	2,46			950
	65	10,1167	2,366		6,5907	1,153	2,05			14070
	66	10,1677	6,570		2,4377	2,554	2,57			370
	67	9,5527	4,015		3,6077	1,800	2,23	850 Wasser		350
	68	9,5317	5,640		1,9827	2,041	2,70	1050 „		170
	69	9,5317	4,580		3,0019	2,103	2,18			230
	70	9,5527	5,080		2,5427	1,753	2,90			320
	71	9,5317	3,620		3,9817	1,580	2,29			500
	72	9,5317		1,93				Urin verloren		520
	73	9,8795	5,810		2,1395	3,030	1,92			480
	74	9,8999	4,907		3,0699	2,263	2,17			420
	75	9,8795	5,130		2,8195	2,117	2,42			490
	76	9,8795	5,190		2,7595	2,140	2,43			420
	77	9,8795	6,840		1,1095	2,776	2,46		2,39	510

Ich hatte das Kind im ganzen 77 Tage im Versuch. Wie aus der Tabelle II hervorgeht, bekam das Kind die ersten 28 Tage die Nahrung ohne Zusatz, die zweiten 28 Tage mit Zusatz von Schilddrüsentabletten, darauf 4 Tage Schilddrüsentabletten mit Milchzuckerzufütterung und die letzten 16 Tage wiederum nur seine gewöhnliche Nahrung. Die Schilddrüsenfütterung geschah aus anderen, nicht hierhergehörigen Gründen, sie stellt einen Teil einer Untersuchungsreihe dar, die später veröffentlicht werden soll. Das Gleichbleiben des Quotienten $N:\overline{H}$ während der Schilddrüsenperiode bei gleichzeitiger geringerer Retention von N zeigt übrigens, daß es sich bei dem Stickstoffverlust bei Schilddrüsenfütterung um wahren Eiweißverlust handelt.

Uns interessieren hier nur die Vorperiode Tag 1 bis 28 sowie die Nachperiode Tag 61 bis 77. Innerhalb dieser Perioden erhielt das Kind mehrere Male große Mengen Wasser zu der sonst gleich bleibenden Nahrung. Trotzdem konnte ich an keinem Tage eine Erhöhung der Stickstoffausscheidung konstatieren. In der Vorperiode, in der die tägliche Stickstoffausscheidung nur innerhalb geringer Grenzen schwankte, zeigte sich sogar zufälligerweise gerade an den Wassertagen eine geringere

Stickstoffausscheidung als an den benachbarten wasserfreien Tagen. Das Verhältnis $N:\overline{H}$ blieb an den Wassertagen ziemlich das gleiche wie an den anderen Tagen. Es fällt auf, daß dieses Verhältnis an den einzelnen Tagen, sei es nun mit oder ohne Wasser, innerhalb geringer Grenzen schwankt, daß sich aber Steigerungen bald wieder durch Herabsetzungen ausgleichen. Es ist ja auch am Hunde beobachtet worden, daß der Stickstoff verfütterter Aminosäuren keineswegs in 24 Stunden völlig ausgeschieden wird.[1]) Wenn wir daher das Mittel der ganzen Perioden ziehen, so sehen wir, daß es während der drei großen Perioden, ebenso wie während der kleinen 4tägigen, vollkommen konstant bleibt, daß wir also nicht berechtigt sind, die Gesamtstickstoffausscheidung irgendwie von der Eiweißzersetzung zu trennen. Würden wir nur einzelne Tage in Betracht ziehen, dann allerdings könnten wir zu total falschen Schlüssen kommen.

Deshalb darf man meines Erachtens aus dem Schwanken der Quotienten $N:\overline{H}$ nur den Schluß ziehen, daß der Abbau und die Ausscheidung des Eiweißmoleküls keineswegs innerhalb 24 Stunden in allen Teilen beendet ist, sondern daß ebenso wie aus dem Magen die verschiedenartigen Speisen zu verschiedenartigen Zeiten ausgetrieben werden, so auch der Körper sich der einzelnen Bausteine des Eiweißes verschieden schnell entledigt, wie ja auch Falta gezeigt hat.

Wenn ich die Ergebnisse meiner Untersuchung zusammenfasse, so komme ich zu dem Schlusse, daß beim Kinde eine Beeinflussung des N-Stoffwechsels durch Wasser nicht zu erzielen ist, und daß wir berechtigt sind, den N-Stoffwechsel mit dem Eiweißstoffwechsel zu identifizieren, wenn wir nur genügend lange Versuchsperioden nehmen und unsere Schlüsse nicht aus den Zahlen kurzer Beobachtungen ableiten. Diese können uns nur ein Bild von dem zeitlichen Ablauf der Eiweißzersetzung geben.

[1]) Amalgia und Embden, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 7.

Zur Methodik der Stickstoffbestimmung im Harn.

Von

P. Rona und R. Ottenberg (New York.)

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 9. Februar 1910.)

Durch die Arbeiten von Ronchèse, Malfatti, wie die von Sörensen ist unsere Aufmerksamkeit auf die Verwendung des Formalins zur Bestimmung des Ammoniaks in Ammoniumsalze enthaltenden Flüssigkeiten gelenkt worden. Es war nun naheliegend, die von diesen Forschern ausgearbeitete „Formolmethode" in dem Falle auf ihre Brauchbarkeit zu prüfen, der den physiologischen Chemiker am häufigsten vor die Aufgabe stellt, eine quantitative Bestimmung des Ammoniaks auszuführen: bei der Bestimmung des Gesamtstickstoffs im Harn nach Kjeldahl. Es sollte untersucht werden, ob eine Ammoniakbestimmung direkt in den nach dem Kjeldahl-Aufschluß erhaltenen Flüssigkeiten nach der Formolmethode mit dem nach dem gewöhnlichen Destillationsverfahren gewonnenen gut übereinstimmende Werte liefert. Eine Schwierigkeit bei der Ausarbeitung des Verfahrens bot die genaue Feststellung des Neutralitätspunktes, von dem aus die Titration beginnen soll. Von einer Reihe von Indicatoren, die hier in Betracht kommen und die wir, um die Methode möglichst bequem zu gestalten, geprüft haben, hat sich nur der Lackmus bewährt. Die große Umschlagsbreite dieses Indicators in dem Bereich der Neutralität könnte zu Fehlern Veranlassung geben. Man erhält aber einen scharfen, auf 1 bis 2 Tropfen einer $^n/_5$-Lösung genau bestimmbaren Umschlagspunkt, wenn man von blau auf die eben deutliche violette Farbe titriert; dieser

Punkt ist erstens gut erkennbar, wir befinden uns dann aber auch in dem Gebiet der H˙-Ionenkonzentration, die der wahren Neutralität entspricht.[1])

Wir wollen nun gleich das Verfahren so beschreiben, wie wir es für den vorliegenden Zweck am geeignetsten gefunden haben. 5 ccm Harn werden mit 10 ccm konzentrierter Schwefelsäure und 5 bis 8 Tropfen einer 1⁰/₀igen Platinchloridlösung als Katalysator aufgeschlossen, mit ca. 100 ccm destilliertem Wasser quantitativ in einem ca. 350 ccm fassenden Erlenmeyerkolben gespült, mit 6 bis 7 Tropfen einer Lackmuslösung (Lackmus von Kubel-Tiemann, von Kahlbaum bezogen) versetzt, ca. 20 ccm 33⁰/₀ige NaOH hinzugefügt, dann an der Wasserleitung abgekühlt und nach dem Erkalten der Flüssigkeit weiter 33⁰/₀ige Natronlauge zuerst kubikzentimeterweise, dann, wenn die blaue Farbe nicht mehr so schnell verschwindet, (wenn nötig, unter Kühlung) tropfenweise hinzugegeben, bis die Farbe eben blau geworden ist. Dann macht man die Flüssigkeit mit $^n/_5$-Säure wieder schwach sauer oder neutral und fügt nun wieder bis zur deutlich blauen Farbe $^n/_5$-Lauge hinzu. Dann wird tropfenweise $^n/_5$-Säure hinzugefügt, bis eben die erste deutliche Abweichung nach dem Violett auftritt. Um diesen Punkt deutlich zu erkennen, muß man eine Vergleichslösung von rein blauer Farbe benutzen, die folgendermaßen hergestellt wird: 150 ccm destilliertes Wasser werden mit 1 ccm $^n/_5$-Natronlauge und 10 Tropfen Lackmus versetzt. Bei der Verwendung dieser Lösung ist der Umschlag stets mit Leichtigkeit erkennbar. Nun fügt man zu der so neutralisierten Lösung 30 ccm Formaldehyd, das vorher unter Anwendung von Phenolphthalein gerade bis zur beginnenden Rosafärbung neutralisiert worden ist, titriert mit $^n/_5$-Lauge, fügt noch, sobald die Farbe beginnt blau zu werden, 1 ccm einer $^1/_2$⁰/₀igen alkoholischen Phenolphthaleinlösung hinzu und titriert weiter bis zum ersten Auftreten der violetten Farbe, die als Mischfarbe von Lackmus und Phenolphthalein entsteht. Die

[1]) Der Neutralitätspunkt des Lackmus ist durchaus nicht das zwischen Rot und Blau liegende Violett, sondern ein ausgesprochenes Blauviolett, das in salzreichen Lösungen noch etwas weiter nach Blau verschoben ist. Vgl. L. Michaelis und P. Rona, Der Einfluß der Neutralsalze auf die Indicatoren. Diese Zeitschr. 23, 61, 1909.

Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter NaOH gibt direkt die entsprechende NH_3- bzw. Stickstoffmenge an. Die ganze Prozedur des Titrierens nimmt etwa 10 Minuten in Anspruch.

Die von uns gewonnenen Resultate sind in der folgenden Tabelle niedergelegt. Untersucht wurden je 5 ccm Harn; die Zahlen bedeuten die verbrauchten Kubikzentimeter $^n/_5$-NaOH. Bei der wie üblich ausgeführten Destillation benutzten wir Methylorange als Indicator.

Tabelle.

Nr.	Destillation	Direkte Titration	Nr.	Destillation	Direkte Titration
1	19 85 19,85 } 19,85	19,80 19,70 } 19,75	7	13,42 13,52 } 13,47	13.37 13,56 } 13,46
2	15 05	15 00 15.15 } 15,07	8	14 92 14.99 } 14,95	15 08 14.82 14,96 } 14,95
3	21 60	21.45 21.60 } 21 52	9	17,08 17,09 } 17,085	17,08 17,15 } 17,11
4	17 92 17 84 } 17 88	17 55 17 47 } 17,51	10	14,26	14,25 14.38 } 14,31
5	14 41	14.41 14.05 } 14,32	11	18.06 17,80 } 17,93	17,30 17,56 } 17,43
6	19 41 19 10 } 19,25	18 98 18 94 } 18 96	12	17,49	17,52 17,40 } 17,41

Die Übereinstimmung der Werte ist wohl befriedigend. Wir glauben daher, daß die Anwendung der „Formolmethode" auch zu dem vorliegenden Zwecke, da sie eine Ersparnis an Zeit und Material bedeutet, von einem gewissen Vorteil sein dürfte.

Physiologisches Verhalten der Radiumemanation.

Von

Anna Laska Plotzk, Russisch-Polen.

(Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 6. Februar 1910.)

Das Verhalten der Radiumemanation im lebenden Organismus ist trotz Untersuchungen mehrerer Autoren im großen und ganzen ungeklärt. Die Anwendung von Radiumemanation in der Therapie hat es notwendig erscheinen lassen, die Frage über Aufnahme und Ausscheidung der Radiumemanation durch den Organismus näher zu studieren.

Untersuchungen der Ausatmungsluft.

Elster und Geibel haben gefunden, daß bei Personen, die viel mit Radium arbeiten, Emanation in der Ausatmungsluft nachweisbar ist. Loewenthal beobachtete nach dem Trinken von Emanationswasser Emanation in der Exhalationsluft; auch die Untersuchungen von Kohlrausch und Nagelschmidt sprechen dafür, daß ein großer Teil der per os dargereichten Emanationsmenge während der nächsten Minuten wieder exhaliert wird. Die beim Ausatmen nachweisbare Emanationsmenge nimmt mit der Zeit ab, doch liegen keine quantitativ genauen Versuche vor!

Um die Emanation in der Ausatmungsluft nachzuweisen, wurden an der I. Medizinischen Klinik der Charité folgende Versuche angestellt:

Ein Kaninchen erhielt mittels Schlundsonde etwa 12×10 Radiogentrinkwasser = 100000 E.[1]) 30 Minuten nach der Verabreichung des Radio-

[1]) Der Emanationsgehalt der zu Versuchen kommenden Präparate wurde mit der üblichen Methode bestimmt. Ich verweise auf die Protokolle in meiner Dissertation „Beiträge zur Radiumemanationstherapie", Berlin, August 1909.

gens wurde bei dem Kaninchen die Tracheotomie vorgenommen und eine Kanüle in die Trachea eingeführt. Das freie Ende der Kanüle wurde mittels eines Gummischlauches mit einem Glasrohre verbunden, das durch den in der unteren Ausflußöffnung des Meßkastens befindlichen Gummipfropfen hindurchgeführt war. Auf diese Weise trat die Ausatmungsluft, deren Emanationsgehalt bestimmt wurde, direkt in den Meßkasten.

Der Versuch ergab, daß die Ausatmungsluft $^1/_2$ Stunde nach interner Verabreichung von Radiogen 846 E zeigte. Nach 1 Stunde war der Emanationsgehalt der Ausatmungsluft 1906 E. Das Ansteigen des Emanationsgehaltes läßt sich durch die Zunahme der im Meßkasten befindlichen Luftmenge erklären, da das Kaninchen ununterbrochen in den Meßkasten hineingeatmet hat.

Das Vorhandensein von Emanationen in der Ausatmungsluft auch bei intravenöser Injektion wurde durch folgenden Versuch nachgewiesen:

Es wurden einem Kaninchen 10 ccm Radiogenwasser = 7600 E in die Ohrvene injiziert. $^1/_2$ Minute später wurde bei dem tracheotomierten Kaninchen die Ausatmungsluft auf die oben beschriebene Weise untersucht.

Es ergab sich, daß in der Ausatmungsluft des Kaninchens 30 Minuten nach der Injektion von Radiogenwasser 3166,5 E waren. 2 Stunden nach der Injektion war die Ausatmungsluft emanationsfrei.

Obwohl in weniger exakter Weise aufgestellt, bekräftigt doch der folgende Versuch die oben erwähnten Resultate.

Ein Kaninchen erhielt intravenös etwa 50 ccm Radiogenwasser = 45000 E. 3 Minuten nach der Injektion wurde es mit dem Kopf in die Öffnung des Meßkastens, die den Hals des Kaninchens annähernd dicht umfaßte, gesteckt. Nachdem das Kaninchen 5 Minuten lang in den Meßkasten hineingeatmet hatte, wurde der Emanationsgehalt der Ausatmungsluft bestimmt; er betrug 2282,3 E.

Auch dieser Versuch zeigt, daß die in die Blutbahn eingeführte Emanationsmenge in kurzer Zeit durch die Lunge den Organismus verläßt.

Die Versuche stimmen mit der theoretischen Überlegung überein, nach der die Emanation als Gas zum größten Teil durch die Lunge zur Ausscheidung kommen muß. Sie zeigen auch, daß die per os dargereichte Emanation länger als die in die Blutbahn eingeführte im Organismus verbleibt, da offenbar die per os einverleibte Emanation nur allmählich nach Maßgabe der in den Darm übertretenden Flüssigkeitsmengen resorbiert wird.

Bluntersuchungen.

Die Untersuchungen des Emanationsgehaltes des Blutes der Tiere, denen auf irgendeine Weise Radiumemanation beigebracht wurde, haben

Kohlrausch und Nagelschmidt vorgenommen. Trotz der dauernden Verabreichung per os von erheblichen Mengen von Radiogenwasser haben sie keine Spuren von Emanation im Blute gefunden. Bei intravenöser Injektion von Radiogen waren bei ihren Versuchen nur geringe Mengen von Emanation, die nach kurzer Zeit verschwanden, im Blute nachweisbar.

Ich habe Blutuntersuchungen nach interner Einverleibung von Emanationswasser, nach intravenöser Injektion und nach Inhalation vorgenommen.

Die Untersuchungen des Blutes nach Verabreichung per os von emanationshaltigem Wasser haben folgende Resultate ergeben:

Nach wiederholter Einverleibung von 50 ccm Radiogenwasser = 50000 E durch Schlundsonde bei einem Kaninchen waren in den 5 ccm entnommenen Blutes 1 Stunde nach dem Verabreichen von Radiogen nur 5,2 E, der Emanationsgehalt nach 2 Stunden war 1,6 E.

Nur in einem Falle, wo dem Versuchstiere durch Schlundsonde 120 ccm Radiogenwasser = 100000 E beigebracht worden sind, war der Emanationsgehalt in 100 ccm des Blutes 133 E.

Nach Einverleibung von drei gelösten Keiltabletten = 25300 E war bei einem Kaninchen der Emanationsgehalt in 5 ccm entnommenen Blutes nur 0,8 E.

Das Blut der mit Emanation behandelten Patienten zeigte einen so kleinen Emanationsgehalt, daß anzunehmen ist, seine Größe liege im Bereiche der Fehlerquellen.

Nach intravenöser Injektion von Radiogenwasser sowie gelösten Keiltabletten war der Emanationsgehalt im Blute kaum nachzuweisen.

Auch nach Inhalation von 6 Keiltabletten war der Emanationsgehalt von 25 ccm Blut nur 5,6 E.

Das Vorhandensein von nur so geringen Mengen der Emanation im Blute läßt sich dadurch erklären, daß der größte Teil der dem Organismus dargereichten Emanation, sobald er ins Blut gelangt ist, dieses durch die Lunge wieder verläßt, was durch die obigen Untersuchungen der Ausatmungsluft bewiesen ist.

Urinuntersuchungen.

Der Radiumemanationsgehalt des Urins ist schon vielfach untersucht worden. Es war von besonderem Interesse zu erfahren, ob die Radiumemanation in die Harnwege gelangt, was den Beobachtungen über die günstige Wirkung von Radiumemanation

bei Katarrhen der Harnwege eine Grundlage geben würde. Elster und Geibel, Loeventhal, Laquer glauben Emanation im Urin nachgewiesen zu haben, während Riedel, Kohlrausch und Nagelschmidt und andere keine nennenswerte Menge von Emanation im Urin gefunden haben.

Die an der Klinik angestellten Untersuchungen des Urins nach Verabreichung per os von 150 ccm Radiogenwasser = 150000 E sowie gelösten Keiltabletten zeigten, daß der Harn emanationsfrei war.

Dieselben negativen Resultate wurden nach intravenöser Injektion von Radiogenwasser und gelösten Keiltabletten gefunden.

In dem direkt aus der Blase entnommenen Harne $^1/_4$ Stunde nach intravenöser Einverleibung von 20 ccm Radiogenwasser = 20000 E war der Emanationsgehalt 5,6 E.

Faecesuntersuchungen.

Berg und Welker haben berichtet, daß sie in den Faeces Aktivität nachweisen konnten; zu dem gleichen Ergebnis kamen Kohlrausch und Nagelschmidt.

Die Untersuchungen der Faeces wurden folgendermaßen angestellt:

Patientin K. badete eine Zeitlang in Radiogen-Badewasser. 16 Stunden nachdem sie 2 gelöste Keiltabletten = 16860 E erhalten hat, wurden die entleerten Faeces untersucht. Ihr Emanationsgehalt betrug = 178,4 E. Die Faeces nach einem Radiogenbad gleich nach der Entleerung untersucht zeigten keinen Emanationsgehalt.

Patientin M. wurde längere Zeit mit Radiogenbädern behandelt. Nachdem sie 2 gelöste Keiltabletten = 16860 E genommen hat, war der Emanationsgehalt, der etwa 15 Stunden nach der Einverleibung von Keiltabletten entleerten Faeces auf Emanationsgehalt untersucht. Er betrug 895,75 E. Der zweite Stuhl, 38 Stunden nach dem Trinken von gelösten Keiltabletten gleich nach der Entleerung untersucht, zeigte einen Emanationsgehalt von 9,2 E. Der dritte Stuhl war emanationsfrei.

Patientin B. hat 150 ccm Radiogenwasser = 150000 E getrunken. Die 3 Stunden nach dem Trinken entleerten Faeces zeigten 13,6 E.

Patientin P., der während 5 Tagen 16860 E durch Inhalation beigebracht waren, inhalierte in 6 Tagen 6 Keiltabletten. Der Emanationsgehalt der Faeces, 12 Stunden nach der Inhalation entleert, gleich nach der Entleerung untersucht, betrug 1,2 E. Der zweite Stuhl dieser Patientin war emanationsfrei.

Die gesamten Faecesuntersuchungen ergeben, daß ein nicht unbedeutender Teil der per os dargereichten Radiumemanation

durch die Faeces ausgeschieden wird, und zwar bei der ersten Entleerung dann, wenn radioaktive Substanzen in Form von Keilschen Tabletten zugeführt wurden. Nach Inhalation ist keine Aktivität in den Faeces nachweisbar.

Untersuchungen des Magendarmkanals.

Die Untersuchungen der mit Emanation behandelten Tiere haben folgende Resultate ergeben:

Einem Kaninchen wurden 4 gelöste Keiltabletten = 33 710 E durch Schlundsonde verabreicht. In den nächsten Stunden bekam das Kaninchen Diarrhöe, nach 2 Tagen starb das Tier, und nachdem die im Darm befindlichen Exkremente entfernt waren, wurde der Emanationsgehalt untersucht. Er betrug 2,4 E.

Der Emanationsgehalt der Leber desselben Tieres war 2,4 E.

Der geringe Emanationsgehalt des Darmkanals und der Leber deutet darauf hin, daß eine besondere Affinität zu Magendarmkanal und Leber nicht zu bestehen scheint. Im vorliegenden Falle ist möglicherweise während der Diarrhöe der größte Teil des Emanationsgehaltes in den Faeces ausgeschieden worden.

Der Magendarmkanal eines Kaninchens, dem während 3 Tagen 72 ccm Radiogenwasser 72 000 E durch Injektion beigebracht worden sind und das $^1/_4$ Stunde vor der Tötung 20 ccm Radiogenwasser = 20 000 E in die Ohrvene bekam, war emanationsfrei. Der Emanationsgehalt der Leber dieses Kaninchens war 6 E.

Es wurden auch die Epiphysen der Tibiae und Femur, Gelenkknorpel und Kapsel fein zerschnitten auf ihren Emanationsgehalt untersucht, weil die Radiumemanation ihre größten Erfolge bei Gelenkaffektionen aufweist. Er betrug 12,0 E.

Auch nach intravenöser Injektion von 9 gelösten Keiltabletten = 75 870 E war der Magendarmkanal emanationsfrei.

Die Leber zeigte einen Gehalt von 14,8 E.

Der Emanationsgehalt der Gelenke war 8,8 E.

Die Resultate dieser von Dezember 1908 bis Mai 1909 angestellten Versuche können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

Direkt in die Blutbahn eingeführte Emanation wird sehr schnell zum größten Teil oder vollständig durch die Emanationsluft ausgeschieden.

Per os eingeführte Emanation scheint verhältnismäßig langsam und allmählich ins Blut zu diffundieren, von wo sie dann ebenfalls durch die Lungen den Organismus verläßt.

Für die Inhalation von Emanation käme ein Zirkulieren von Emanation im wesentlichen während der Dauer der Inhalation in Betracht.

Die Emanation scheint hauptsächlich durch die Lungen, sowohl bei intravenöser Zufuhr als auch bei Darreichung per os ausgeschieden zu werden.

Die Faeces erweisen sich in höherem Maße nur dann aktiv, wenn radioaktive Substanzen in fester Form (Keiltabletten) dargereicht werden.

Eine besondere Affinität von Organen zu Emanation konnte nicht erwiesen werden. Der Urin war stets emanationsfrei.

Über den Gehalt normaler menschlicher Organe an Chlor, Calcium, Magnesium und Eisen sowie an Wasser, Eiweiß und Fett.

Von

A. Magnus-Levy.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 8. Februar 1910.)

Über den Gehalt gesunder menschlicher Organe an Mineralstoffen usw. ist wenig bekannt. Eine genaue Kenntnis der normalen Verhältnisse ist aber unerläßlich für die Beurteilung der Zusammensetzung pathologischer Teile. Mangels dieser Grundlage hat man sich damit beholfen, Durchschnittswerte aus größeren Reihen pathologischer Organe zu berechnen, in der Annahme, daß die Abweichungen von der Norm nach oben und unten sich wohl ausgleichen könnten. Daß dieser Notbehelf unzulänglich ist, haben sich auch die betreffenden Autoren nicht verhehlt. Als angebliche Normalwerte werden in der Literatur ferner Angaben aus älterer Zeit angeführt, u. a. solche von Oidtmann[1]) für Leber und Milz, von Schmidt-Kußmaul[2]) für Lunge usw. Die kritische Durchsicht der Originalarbeiten führt indes zu dem Ergebnis, daß kaum eine dieser Zahlen wirklich ein Normalwert ist.

Wohl handelte es sich stets um Organe, in denen der pathologische Anatom makroskopisch keine gröberen Veränderungen gefunden hat, aber diese Teile stammten alle von Kranken, die an schweren Krank-

---

[1]) Oidtmann, H., Die anorgan. Bestandteile der Leber u. Milz, Lümmich 1858.

[2]) Schmidt-Kußmaul, Arch. f. klin. Med. 2, 89ff., 1867.

heiten gestorben waren. Man darf nun Leber und Milz eines älteren, an Dementia verstorbenen Mannes (Oidtmann) sicherlich nicht a priori als chemisch normal betrachten, ehe dafür nicht der Beweis durch den Vergleich mit den Organen wirklich gesunder Menschen erbracht ist. Das gleiche gilt von den Organen eines syphilitischen Neugeborenen (Oidtmann), der „normalen" Lunge von Patienten, die an erschöpfenden Krankheiten, wie Caries der Wirbel oder Carcinoma uteri (Schmidt-Kußmaul), gestorben waren usw. — Obendrein ist die Untersuchungsmethode der älteren Autoren nach verschiedenen Richtungen hin fehlerhaft gewesen. Das gilt nicht nur für sämtliche älteren Chlorbestimmungen, sondern zum Teil auch für die des Calciums und Magnesiums usw. Diese Behauptung klingt zunächst befremdend, da doch Calcium und Magnesium nicht flüchtig sind, und ihre Bestimmung in der veraschten Substanz an sich keine wesentlichen Schwierigkeiten bietet. Sieht man indes zu (vgl. das Buch von Oidtmann), wie man früher mit unzureichenden technischen Veraschungseinrichtungen 500 und 1000 g Substanz eingeäschert hat und die Asche dann in wasserlösliche und unlösliche getrennt hat, wie man Niederschläge und Filtrate noch weiter mehrfach geteilt hat, um schließlich aus zahlreichen verzettelten Bestimmungen die Werte zusammenzurechnen, so wundert man sich über besondere Auffälligkeiten der Resultate nicht mehr.[1]) Welche der so erhaltenen Zahlen von solchen Fehlern frei sind, läßt sich heute nicht herausfinden. Es gilt einfach an Stelle des unzureichenden alten Materials neues zu gewinnen nach dem Stande der heutigen Technik und Anschauungen.

Die von mir untersuchten Organe stammten von der Leiche eines 37jährigen Selbstmörders, der sich die Arteria radialis und Vena jugularis durchschnitten hatte. Die Sektion war im Institut für Staatsarzneikunde gemacht worden. Sämtliche Organe waren makroskopisch vollkommen normal bis auf einige Flecke in der Aorta und eine „unbedeutende" Hypertrophie der linken Herzkammer. Konstitution kräftig, Ernährung gut, ziemlich großer Fettreichtum (besonders in der Bauchhöhle). Gehirn, Leber und Milz stark ausgeblutet, die anderen Organe mäßig stark. Teile der Organe wurden, bevor sie bei der Sektion mit Wasser in Berührung kamen, abgetrennt, in luft-

[1]) Oidtmann findet u. a. in der Leber eines 56jährigen Irren nur 2,3, in der eines syphilitischen Neugeborenen gar nur 0,5 mg MgO; in der Milz eines an Marasmus senilis verstorbenen Mannes nur 17,5 mg P_2O_5, gegen 316 mg ($Na_2O + K_2O$) und 140 mg (CaO + MgO), alles pro 100 g frische Substanz berechnet; Geoghegan (bei 4 Analysen mit je 500 bis 600 g menschlichem Gehirn) 0,7 bis 3,0 mg CaO und 2,7 bis 10 mg MgO. Vgl. dazu meine Werte für die betreffenden Organe.

dicht schließende Gläser verbracht und im Kälteraum bei 4° bis zum nächsten Morgen aufbewahrt. Dann wurden sie mit Messer oder Hackmaschine unter möglichster Vermeidung von Verdunstung zerkleinert, größere abgewogene Mengen auf dem Wasserbade getrocknet, nach 1 bis 2 tägigem Stehen an der Luft gewogen, eventuell weiter zerkleinert und so „lufttrocken" in Flaschen mit eingeschliffenen Glasstopfen zur weiteren Untersuchung aufbewahrt. In einzelnen Fällen bereitete der große Fettreichtum der Organe bei der Trocknung und bei der Herstellung einer gleichmäßigen Mischung Schwierigkeiten, was verschiedene Kunstgriffe erforderte. Ich verzichte auf deren Aufzählung.

Meine Werte für den Darm sind vielleicht nicht richtig; ich bin nachträglich zweifelhaft geworden, ob das Ausstreichen des zähen Chymus von der Darmwand vollständig genug gewesen ist. War das nicht der Fall, so wären, da der Chymus wasserreicher ist, die Werte für Wasser zu hoch, für Tr.-S., Fe, Ca, Mg und Cl (?) zu niedrig (s. w. u.).

Methodik.

Bei der Untersuchung der Mineralstoffe gilt das Prinzip für die einzelnen Bestandteile oder Gruppen, also für Cl, P (S), Fe mit Ca und Mg, sowie für Na und K stets neues Material zur Analyse zu nehmen, sofern genügend Substanz vorhanden ist. Die früher viel geübte Unterscheidung, wieviel von den einzelnen un- oder schwerlöslichen Stoffen Ca, Mg, P, Fe aus der Asche in wässerige Lösung übergeht oder nicht, ist für die physiologische Betrachtung absolut wertlos, und hat auch methodisch für unsere Absichten keinen Zweck mehr. Der von Dennstedt und Rumpf gemachte Versuch einer Trennung wasserlöslicher und unlöslicher Mineralstoffe im frischen Organ, d. h. einer Unterscheidung nach der Diffusibilität, hat zwar eine theoretische Berechtigung, doch ist die Methodik dafür noch nicht genügend ausgebildet und möglicherweise überhaupt nicht in befriedigender Weise zu schaffen.

Die Chlorbestimmungen habe ich nach Bunge durch Veraschen mit Soda bei niedrigster Temperatur ausgeführt. Ich verweise auf eine demnächst erscheinende Arbeit von mir, die sich mit der Prüfung der verschiedenen Methoden zur Chlorbestimmung beschäftigt. Eisen, Kalk und Mg wurden in einer Portion bestimmt, das Eisen als Phosphat in

essigsaurer Lösung abgetrennt (beim Auswaschen Vorsicht!), Ca durch Ammoniumoxalat gefällt, als CaO gewogen, Mg als Pyrophosphat bestimmt. Das Eisen wurde mit Permanganat titriert. (Die Wägung des Eisenphosphats gibt höhere Werte.) Der Titer der Permanganatlösung wurde sowohl mit Na-Oxalat wie mit reinem Eisen gestellt, zahlreiche Kontrollbestimmungen mit Eisen vorgenommen. Im geglühten CaO können kleine Mengen Fe enthalten sein (größere Mengen verraten sich ohne weiteres durch die Farbe des Niederschlags), ferner bei mangelhafter Ausführung Phosphorsäure und MgO. Eine Kontrolle der Reinheit des gewogenen CaO besteht in seiner Titration, ich habe sie oft geübt. Noch zuverlässiger erscheint mir bei der Kleinheit der Mengen, um die es sich hier handelt, eine erneute Bestimmung des gewogenen CaO als Sulfat: Lösen in wenig verdünnter HCl, Zusatz von Schwefelsäure und Fällung mit dem 5 bis 6fachen Volumen Alkohol (Aron). Dabei bleibt etwa vorhandenes Eisen, MgO und Phosphorsäure in Lösung, das gewogene $CaSO_4$ hat ein $2^1/_2$mal so hohes Molekulargewicht als das CaO. (Fällt man übrigens nach Aron das $CaSO_4$ direkt aus der durch Verbrennen mit H_2SO_4 erhaltenen Lösung der Asche mit Alkohol, so geht bei größerem Eisengehalt der Organe leicht etwas Eisen in den Gipsniederschlag ein.) Die Filtrate vom $CaSO_4$ kann man dann bei der von mir geübten Kontrolle zur Prüfung auf Fe, P_2O_5 und MgO verwenden. Der NH_4MgPO_4-Niederschlag kann, außer bei gröbsten Fehlern, kaum fremde Stoffe (eventuell CaO) enthalten, ein Fehler kann eher in ungenügender Fällung bestehen. Eine erneute Verarbeitung des Filtrates, Eindampfen, leichtes Glühen des Rückstandes zur Vertreibung der vielen Ammoniumsalze usw. schützt vor Irrtümern.

Alle diese Kontrollen, die ich fast bei jeder Analyse angewendet habe, sind dem geübten Analytiker bekannt und für ihn vielleicht überflüssig. Dem Mediziner, der nicht in täglicher Übung ist, sind sie dringend zu empfehlen.

Über die Genauigkeit der erhaltenen Werte.

Katz[1]) gibt für 100 Teile frisches Menschenfleisch in zwei Bestimmungen 11,4 und 11,1 mg CaO an. Da er jedesmal 50 g frischer Substanz zur Analyse genommen hat, so bedeutet das eine Übereinstimmung der zwei CaO-Wägungen bis auf 0,15 mg. So gute Übereinstimmungen finden sich bei Katz zwar nicht immer, aber doch häufig, bei mir sind sie weit seltener. Wenn bei Verwendung von je 30 g frischer Substanz[2]) — und häufig stand nicht mehr zur Verfügung —

---

[1]) Katz, Pflügers Archiv 63, 1, 1896.

[2]) Wo ich genug Material hatte, wurden 15 bis 25 g lufttrockner Substanz = 50 bis 80 g frischer Substanz zur Fe-Ca-Mg-Analyse genommen.

einmal 4,0 mg CaO und das zweitemal 4,6 mg gewogen wurden, so halte ich das für eine noch erlaubte Abweichung. „Welcher Analytiker verbürgt sich für die Richtigkeit des Gewichtes der abgeschiedenen Stoffe bis auf das Milligramm?" (Rammelsberg!) Eine Differenz von 0,6 mg Ca in 30 g bedeutet aber für 100 g eine Differenz von 2 mg CaO. Derartige Unterschiede zwischen zwei Analysen-Werten halte ich hier für zulässig oder gebe zum mindesten ihr Vorkommen in meinen Analysen ausdrücklich an. Daß ich auch beim Chlor die Genauigkeit von Bunge nicht erreicht habe, gebe ich ebenfalls zu. Bunge findet bei Doppelbestimmungen Werte, die auf 100 g frische Substanz oft bis auf 1 mg Cl übereinstimmen. Bei mir kommen in Reihen von 4 bis 6 Bestimmungen Unterschiede von mehreren Milligrammen Cl vor. Diese Differenzen sind, bei besonders sorgfältigem Arbeiten, bei absolut gleichmäßiger Mischung der Substanz, die in meinem Falle wegen des hohen Fettgehaltes nicht immer möglich war, sicher zu verkleinern. Für die physiologischen Werte aber besagen Fehler dieser Größe, die sich ja bei Anstellung zahlreicherer Analysen etwas ausgleichen, nicht viel.

Nur von den kleinen Organen, Speicheldrüse, Hoden, Schilddrüse und Pankreas habe ich wegen des geringen Materials keine Doppelanalyse ausführen können, sonst liegen von jedem Mineralstoff zwei Bestimmungen und mehr vor. Bei den drei ersten der eben genannten Organe mußten obendrein Cl mit Fe, Ca und Mg in einer Portion bestimmt werden, das Cl in salpetersaurer Lösung durch Fällung und Wägung als AgCl, dann nach Abscheidung des Silbers mit H_2S und Vertreibung der Salpetersäure die anderen Stoffe. Ich habe diese vier Organe erst am Schlusse der ganzen Reihe analysiert, als ich durch zahlreiche Doppelbestimmungen an den anderen Organen wieder über die nötige Sicherheit verfügte.

Chlorgehalt.

Die Tabelle I enthält die Werte für NaCl und Cl in Milligramm für 100 g frisches Organ; ferner einige zuverlässige Zahlen anderer Autoren von menschlichen Organen, solche vom Hund, für den systematische Untersuchungen verschiedener Forscher vorliegen, sowie einige andere wichtige Werte.

Tabelle I.

In 100 g frischer Substanz:

	Mensch				Hund			
	NaCl mg M.-L.	Cl mg M.-L.	Cl mg Katz[1])	Cl mg Ingelfinger[2])	Langlois und Richet[3])	Wahlgren[4])	Nencki[5])	
1. Muskel	100,4	61	70	62,5	155 (86)[7])	74	33	80,5 Katz
2. Herz	204	124						
3. Gehirn	215	130,5			211 (151)	185	100	
4. Lunge	429	260	243[6])			242	150	
5. Leber	159	96		132	198 (133)	126	25	
6. Milz	265	161					107	
7. Niere	343	208			271 (254)	258	122	
8. Darm	100	61				166	40	
9. Pankreas	265	161					51	
10. Speicheldrüse	223	133						
11. Schilddrüse	279,1	169						
12. Hoden	372,1	226						

	Milligramm Cl in 100 g frischem Organ	
1. Muskeln		
Mensch	61; 62,5; 70	M.-L., Ingelfinger, Katz
Hund	33?—155?	Nencki, Wahlgren, Katz, Langlois
Kaninchen	51	Katz
Rind	56,7; 67 u. 71	Katz, Bunge[8])
versch. Säugetiere . .	48,4—80,5	Katz
Flußfische: Hecht . . .	31,9	"
Seefische: Schellfisch .	240,9	"
2. Leber		
Mensch	96; 132	M.-L., Ingelfinger
Hund	25(?)—198	Nencki, Wahlgren, Langlois
Kaninchen	90—132	Brandenstein und Chajes[9])

[1]) Katz, Pflügers Archiv 63, 1, 1896.

[2]) Ingelfinger, Annal. d. Münch. städt. Krankenhauses 12, 174, 1902 (?).

[3]) Langlois und Richet, Journ. phys. et path. gen. 1900, 741.

[4]) Wahlgren, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 61, 97, 1909.

[5]) Nencki und Schoumow-Simanowsky, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 34, 313 (328) 1894.

[6]) Robin, Bull. mens. Soc. etudes scient. sur la tuberculose 2, 1907.

[7]) Die eingeklammerten Ziffern beziehen sich auf Organe von maximal entbluteten Tieren.

[8]) Bunge, Zeitschr. f. physiol. Chem. 28, 452, 1899 (Knorpel); Zeitschr. f. Biol. 10, 324, 1874 (Ganze Tiere); Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 60, 1885 (Rindermuskeln).

[9]) Brandenstein und Chajes, Senator-Festschrift 1904, S. A.

Tabelle I (Fortsetzung.)

	Milligramm Cl in 100 g frischem Organ	
3. Darm		
Mensch	61	M.-L.
Hund	40—166	Nencki, Wahlgren
Schwein	118	M.-L.
4. Hoden		
Mensch	226	„
Stier	202	„
5. „Bindegewebe“		
Stier (Tunica albuginea)	332	„
6. Knorpel		
Selachier	483	Bunge
Kalb	164—170	„
Schwein (erwachsen) .	51	„
7. Skelett		
Hund (Rippe!)	179	Wahlgren
Knochencompacta . .	ca. 50	Div. Autoren
do. auf organ. Sbst. ber.	ca. 150	
8. Haut		
Hund	145; 376	Nencki, Wahlgren
9. Panniculus adiposus		
Hund	76	Nencki
10. Nierenfett		
Hund	32	„
11. Ganzer Körper		
Mensch, neugeboren .	188	Hugounneucq [1]), Michel [2]) (5 Individ.)
„ „	178	Camerer und Söldner [3])
„ erwachsen . .	123	M.-L.
Kaninchen, Embryo .	208	Bunge [4])
„ 14 Tage alt	135	„
Maus, ausgewachsen .	140	„
Hund, 4 Tage alt . .	231	„
Katze, 19 Tage alt . .	197	„

Am chlorärmsten sind unter den von mir untersuchten menschlichen Organen die Muskeln, am reichsten die Lungen. Meine Zahl für Muskeln (61 mg Cl) stimmt recht gut zu denen von Katz (70) und Ingelfinger [5]) (62,5), ebenso für die

[1]) Hugounneucq, zit. nach Czerny-Keller, Des Kindes Ernährung 1, 84 ff.

[2]) Michel, zit. nach Czerny-Keller, Des Kindes Ernährung 1, 84 ff.

[3]) Camerer und Söldner, Zeitschr. f. Biol. 39, 173, 1900.

[4]) Siehe Anmerkung 8 auf Seite 368.

[5]) Ingelfinger, Annal. d. Münch. städt. Krankenhauses 12, 174, 1902 (?).

Lungen zu der von Robin[1]) (260 gegen 243 mg). Die Muskeln sind auch bei anderen Tieren, insbesondere bei Säugern das oder eines der chlorärmsten Organe (s. Tab.). Die Lunge steht auch beim Hunde obenan [Nencki[2]) und Wahlgren[3])]. — Zu den chlorreichen Organen gehört ferner die Niere. Man könnte sich denken, daß ihr Chlorgehalt mehr als der anderer Organe von dem Wechsel im Kochsalzgenuß abhänge, derart, daß die Nierenzelle bei reichlicher Salzaufnahme salzreicher würde, indem sie sich zur Ausscheidung größerer Mengen Chlor zuvor mit Kochsalz beladen müsse. Diese Annahme findet freilich in den Versuchen von Wahlgren zunächst keine Stütze; doch entscheiden diese die Frage nicht endgültig, da hier nur eine einmalige ganz kurze Überladung des Organismus mit Kochsalz, keine dauernde Überlastung stattfand. — Das Herz des Menschen enthielt doppelt so viel Chlor als die quergestreifte Muskulatur. Sehr chlorreich sind die Hoden (226 mg); Stierhoden, zum Vergleich von mir analysiert, ergaben einen ungefähr ebenso hohen Wert (202 mg). Sehr niedrig war der Chlorgehalt des Darmes (61 mg; nur eine Analyse). (Vgl. die Bemerkungen auf S. 365 und S. 368.) Wahlgren fand bei 5 Hunden stets sehr viel höhere Werte (158 bis 179 mg), ich selbst in einem Schweinedarm 118 mg Cl (Doppelanalyse). Auch die Leber war Cl-arm (96,0). Der Gehalt der anderen Organe lag zwischen 100 und 200 mg Cl pro 100 g frischem Organ.

Starke Ausblutung des Körpers erniedrigt nach Langlois und Richet den Chlorgehalt der Organe. Daß möglicherweise dadurch meine Zahlen kleiner ausgefallen sein mögen als bei anderen, nicht durch Verbluten zugrunde gegangenen Menschen, muß in Erwägung gezogen werden. Doch war die Person, bei der Ingelfinger in den Muskeln fast den gleichen Chlorwert fand, ertrunken, also nicht verblutet. Katz macht über die Todesart seines Selbstmörders keine Angabe.

In meiner Reihe fehlen die Haut, das Fettgewebe und das Skelett, Knorpel, Blut und Bindegewebe. Über das Blut soll

---

[1]) Robin, Bull. mens. Soc. études scient. sur la tuberculose 2, 1907.

[2]) Nencki und Schoumow Simanowsky, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 34, 313, 328, 1894.

[3]) Wahlgren, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 61, 97, 1909.

in einer späteren Arbeit berichtet werden. Es ist beim Menschen ebenso wie bei allen anderen Tieren Cl-reicher als die Organe. Die Haut scheint einen großen Gehalt an Chlor zu haben, sie steht nach Wahlgren beim Hunde obenan. Daß das Skelett (Rippe) größere Mengen Chlor führt (E. Wahlgren, siehe Tabelle), liegt wohl zum Teil an seinem Gehalt an Blut und Knochenmark; aber auch die Knochencompacta enthält kleine Mengen dieses Halogens.

Als sehr salzreich gilt der Knorpel; hier wirkt eine Erinnerung an ältere irrige Angaben nach, die Bunge richtig gestellt hat. Tatsächlich ist nur der Selachierknorpel sehr Cl-reich [Bunge[1])]: mit 483 mg Chlor pro 100 g steht er an der Spitze aller bisher untersuchten tierischen Organe. Der Kalbsknorpel aber fällt mit 164 bis 170 mg Cl schon nicht mehr besonders aus der Reihe, und im Nasenknorpel des ausgewachsenen Schweines fand Bunge nur 51 mg Cl. Nicht unbeträchtliche Mengen Cl fand Nenoki im Unterhautfettgewebe und in dem Fett der Nierenkapsel. Da dieses Chlor sicher nicht in den offenbar reines Fett darstellenden Fetttropfen der Zellen selber sitzt, sondern in deren bindegewebigem Gerüst, so muß dieses danach sehr chlorreich sein. Reines lockeres Bindegewebe in größerer Menge zur Analyse zu erhalten, wird schwierig sein. Man kann sich an Sehnen, Dura Mater usw. halten. Ich habe die mir gerade zugängliche Tunica albuginea vom Stierhoden analysiert. Sie war tatsächlich chlorreicher (332 mg) als alle anderen Organe, mit Ausnahme des Haiknorpels und der Hundehaut. Da die Haut nun zum großen Teil aus Bindegewebe besteht, so ist der Schluß ziemlich wahrscheinlich, daß das Bindegewebe chlorreich ist. Das würde zum Teil auch den verhältnismäßig großen Gehalt des Skeletts an Chlor erklären.

Ich habe versucht, aus den von mir erhaltenen Werten den Chlorgehalt des ganzen menschlichen Körpers zu berechnen. Für das Gewicht der Organe und Organgruppen habe ich im wesentlichen die Zahlen benutzt, die Bischoff[2]) von einem robusten Arbeiter von 70 kg mitteilt.

---

[1]) l. c.

[2]) Bischoff (korrigierte Zahlen bei Volkmann Nr. 26).

Tabelle II.

Nr.		kg	Cl ‰	Cl g
1	Muskeln	29,10	0,65	18,92
2	Herz	0,33	1,24	0,41
3	Gehirn (R.-Mark-Nerven)	1,69	1,30	2,20
4	Lunge	1,00	2,52	2,52
5	Leber	1,57	0,96	1,51
6	Milz	0,13	1,61	0,21
7	Nieren	0,27	2,08	0,56
8	(Magen) Darm	1,266	0,61	0,77
9	Pankreas	0,10	1,61	0,16
10	Speicheldrüsen	0,05	1,35	0,07
11	Schilddrüse	0,016	1,69	0,03
12	Hoden	0,03	2,26	0,07
1—12		35,55		27,48
13	Blut	4,5	3,3(?)	14,85
1—13		40,05		42,28
14	Haut	4,85	3,0(?)	14,55
15	Skelett	11,08	1,8(?)	19,94
16	Fettgewebe	12,6	0,5(?)	6,30
17	Rest	1,32	2,0(?)	2,84
14—17		29,95	—	43,63
1—17		70,0	1,227 [1])	85,91 g Cl = 141,5 NaCl
	Mensch, neugeborener		1,78—1,88	
	Kaninchen, Embryo		2,08	
	„ 14 Tage alt		1,35	
	Hund 4 „ „		2,31	
	Katze 19 „ „		1,97	
	Maus, ausgewachsen		1,40	

Füge ich zu den von mir untersuchten 12 Organen noch das Blut, dessen Menge und Chlorgehalt ziemlich gut bekannt sind, hinzu, so zeigt sich, daß diese Organe mit 40 kg zusammen nur 42 g Cl enthalten. Wenn ich für die Haut, das Skelett, das Fettgewebe und den „Rest", die 30 kg wiegen, im Anschluß an Wahlgrens und Nenckis Zahlen ziemlich hohe Cl-Werte einsetze, so führen diese 4 Gruppen ca. 43,7 g Cl, der ganze Körper mit 70 kg also nur rund 86 g Cl oder 141 g NaCl. — Ich verkenne die Unsicherheit dieser Zahlen nicht, die geschätzten Nr. 14 bis 17 machen einen recht großen Betrag, über die Hälfte, aus; doch bleibt der von mir berechnete Wert, selbst wenn er in Zukunft noch eine Erhöhung erfahren

[1]) 1,227 ‰ Cl = 2,02 % NaCl.

sollte, wesentlich kleiner, als man ihn sich gewöhnlich vorgestellt hat; das rechtfertigt meine früher ausgesprochene Vermutung, daß der Körper des erwachsenen Menschen chlorärmer sei als der des neugeborenen, wie das Bunge ja für das Tier festgestellt hat. Für den menschlichen Neugeborenen beträgt der Durchschnittswert 178 bis 188 mg Chlor in 100 g frischer Leibessubstanz, für den Erwachsenen wäre er 123 mg, also noch etwas weniger, als Bunge für die Maus (140 mg) gefunden hat (s. die Tabelle).

Kalk, Magnesia und Eisen.

Tabelle III.

Nr.		In 100 g frischer Substanz		
		Fe mg	CaO mg	MgO mg
1	Muskeln	25,3	9,1	35,8
2	Herz	6,7	11,0	29,0
3	Gehirn	8,3	14,8	23,2
4	Lunge	67,2	23,6	12,3
5	Leber	60,8	10,1	29,2
6	Milz	72,3	13,0[2])	23,6[2])
7	Niere	15,8	26,9	34,5
8	Darm[1])	13,3	18,9	12,3
9	Pankreas	4,5[2])	22,2[2])	28,0[2])
10	Speicheldrüse	5,5[2])	18,4[2])	?
11	Schilddrüse	5,8[2])	47,2[2])	16,0[2])
12	Hoden	4,5[2])	11,6[2])	15,8[2])
	(Hammelschilddrüse) .		[30,3[2])]	[23,3[2])]

Der Kalkgehalt der meisten Organe ist niedrig, er beträgt zwischen 10 und 20 mg CaO in 100 g frischer Substanz. Nur Niere, Lunge und Pankreas enthalten 20 bis 30 mg Kalk. Daß der hohe Wert in der Schilddrüse (47 mg CaO bei nur 11,6 g MgO) vielleicht auf einem Analysenfehler beruht, kann ich nicht sicher ausschließen, da ich nur eine Analyse mit 5 g Trockensubstanz habe ausführen können. Doch habe ich in sehr fettreicher Hammelschilddrüse auch 30,3 mg CaO gefunden. Meine Zahlen für Muskeln (9,1 mg) und Lunge (23,6 mg CaO) stimmen gut zu denen von Katz (Muskeln = 10,5 mg CaO) und zu denen von Robin für Lunge (22 bis 29, im Mittel 26 mg CaO).

[1]) Bezüglich der vielleicht zu niedrigen Werte für den Darm siehe S. 365.

[2]) Nur je eine Analyse.

Magnesia kommt in den meisten Organen in etwas größerer Menge vor (20 bis 40,0 mg MgO) als Kalk. Lunge (12,3 mg; Robin 14 bis 16 mg MgO), Schilddrüse (16,0 mg), Darm und Hoden sind etwas ärmer. Für Muskeln finde ich den gleichen Wert (35,8) wie Katz (35,1 mg MgO). Im normalen und krankhaften Stoffwechsel hat die Magnesia, aus begreiflichen Gründen, bisher weniger Interesse gefunden als der Kalk, und das wird zunächst auch so bleiben. Die Zahlen der Literatur über den MgO-Gehalt der Muskeln scheinen weniger zu schwanken als die für den Kalk. Von einer Zusammenstellung habe ich abgesehen.

Der Eisengehalt ist hoch in Lunge, Leber und Milz. Die zwei letzten Organe sind Depotstätten für Eisen, man kann in ihnen nicht von einem normalen Eisengehalt sprechen oder gleichmäßige Zahlen zu finden erwarten. In quergestreiften Muskeln fand ich 25,3 mg Fe, also mehr als Katz (14,7), im Herzen nur den vierten Teil (6,7). Noch geringer ist der Gehalt der meisten anderen Organe (bei Nr. 9 bis 12 hatte ich nur wenig Material zur Verfügung).

Der Kalkgehalt der Weichteile spielt in der Erörterung über die Rachitis eine gewisse Rolle. Hier ist es nötig zu wissen, wie groß die physiologischen Schwankungen sind. Ich habe aus der Literatur eine Reihe Analysen von Autoren zusammengestellt, die sich besonders mit der Kalkfrage beschäftigt haben.

Da finden sich (vgl. die Tab. IV) für Rindermuskeln Werte von 2,96 bis 29,4 mg, für Muskeln von Hunden (NB. nicht etwa bei kalkarmer Nahrung!) solche von 5,0 bis 19, in der Leber junger Hunde 12 und 30 mg und noch größere Abweichungen in den Muskeln von Kaninchen (Gostein 61 bis 100 mg CaO!). Kämen solche großen Unterschiede tatsächlich vor, so würden die meisten bisher beobachteten pathologischen Abweichungen innerhalb dieser Differenzen fallen und vorderhand keinerlei Bedeutung haben. Ich möchte bis auf weiteres das Vorkommen so großer normaler Schwankungen nicht als feststehend betrachten, ehe sie nicht durch systematische Untersuchungen eines einzelnen besonders zuverlässigen Analytikers bewiesen sind.

Tabelle IV.

	In 100 g frischem Organ		
	CaO[1]) mg	MgO[1]) mg	
Rindermuskeln	20—30	40—50	G. Lehmann[2]) (zit. nach Heiß)
„	29,4	46	Keller[2])
„	2,96	40	Katz[3])
„	6,9	50	„
„ fett	7,0	38	Bunge[4])
„ mager	8,6	41	„
„	17,2	39,6	Bertram[5])
Pferdemuskeln	25,0		Tereg-Arnold[6])
„	23,0		„
Hundemuskeln	18,9		Forster[7])
„	9,6	39,3	Katz[3])
„ jung	(10) 16,19		E. Voit[8])
„ „	5,0[15])		Aron-Sebauer[9])
Kaninchenmuskeln	25,6[1])	47,5	Katz[3])
„	61,6—100,8		Goitein[10])
Leber, Hund	12,12		E. Voit[8])
„ jung	30,8		Baginsky[11]) (mit $Ca_3P_2O_8$ gefüttert)
Kinder:			
$2^1/_2$ J., nicht rachitisch			
Lunge	14		Stoeltzner[12]). Todesursache unbekannt
Herz	23		Stoeltzner
Leber	10		„
Niere	8		„
4 J., nicht rachitisch			
Muskeln	10		Brubacher[13]) († Diphtherie)
$3^3/_4$ J., angebl. rachitisch(?)			
Muskeln	10	20	
Mensch erwachsen: Gehirn	0,7	11,3—12,0	Geoghegan[14]) (mangelhafte Analyse!)

[1]) Wo die Angaben der Autoren auf Ca und Mg lauten, sind sie von mir auf CaO und MgO umgerechnet.

[2]) Keller, Lehmann, zit. nach Heiß, Zeitschr. f. Biol. 12, 151, 1876 (161). [3]) Katz, Pflügers Archiv 63, 1, 1896.

[4]) Bunge, Zeitschr. f. phys. Chem. 9, 60, 1885 (Rindermuskeln).

[5]) Bertram, Zeitschr. f. Biol. 14, 335, 1878.

[6]) Tereg und Arnold, Pflügers Archiv 32, 122, 1883 (155).

[7]) Forster, Zeitschr. f. Biol. 12, 464, 1876 (466).

[8]) E. Voit, Zeitschr. f. Biol. 16, 55, 1880 (91).

[9]) Aron-Sebauer, diese Zeitschr. 8, 1, 1908.

[10]) Goitein, Pflügers Archiv 115, 118, 1906.

[11]) Baginsky, Virchows Archiv 87, 301, 1882 (312).

[12]) Stoeltzner, J. Kinderheilkunde, 50, 268, 1899.

[13]) Brubacher, Zeitschr. f. Biol. 27, 517, 1890.

[14]) Geoghegan, Zeitschr. f. phys. Chem. 1, 331, 1877.

[15]) 25 trocken = 100 frisch gerechnet.

Wasser-, Fett- und Eiweißgehalt.

Tabelle V.

	In 100 g frischem Organ						In 100 g fettfreier Tr.-S.
	1 H_2O	2 Tr.-S.	3 Fett	4 fettfreie Tr.-S.	$\frac{1}{4}$ $\frac{H_2O}{\text{fettfr. T.-S}}$	N	N
1. Muskeln . . .	72,24	27,76	7,56	20,20	3,58	3,056	15,12
2. Herz	74,81	25,19	8,28	16,91	4,41	2,50	14,81
3. Gehirn	77,9	22,1	—	—	—	1,777	—
4. Lunge	80,0	20,0	1,7	18,3	4,37	2,676	14,62
5. Leber	60,6	39,4	21,28	18,12	3,34	2,705	14,93
6. Milz	78,47	21,53	2,77	18,75	4,18	2,793	14,89
7. Niere	75,60	24,40	5,27	19,13	3,95	2,821	14,70
8. Darm	81,86	18,14	6,53	11,61	7,05	1,771	15,26
9. Pankreas . . .	72,20	27,80	10,56	17,24	4,19	2,507	15,13
10. Speicheldrüsen	72,61	27,39	11,41	15,98	4,54	2,463	15,41
11. Schilddrüse . .	75,70	24,30	4,38	19,92	3,80	2,686	13,48
12. Hoden	86,61	13,39	4,51	8,88	9,75	1,368	15,41
a) Stierhoden Pulpa	86,65	14,35	1,5	12,85	6,66		
b) Stierhoden Tunica albuginea .	67,2	32,6	?		(ca. 2,0)		
c) Schweinedarm	82,65	17,35	1,74	15,61	5,30		

Der Wassergehalt wurde, da mir bessere technische Einrichtungen fehlten, durch Trocknen bei 105° bestimmt, der Gehalt an Eiweiß (gleich N × 6,25) in Doppelanalysen nach Kjeldahl, das Fett nach Kumagawa.

Der Wassergehalt der meisten Organe liegt zwischen 70 und 80%. In fettreichen Organen ist er geringer (in der Leber mit 21% Fett nur 60% Wasser), in fettarmen höher. Auf ein Teil fettfreie Trockensubstanz kommen 3,3 bis 4,5 g Wasser. Ziemlich wasserreich, sowohl absolut wie auch im Verhältnis zur fettfreien Trockensubstanz sind Lungen und Herz, Darm (?) und Hoden. Entsprechende Zahlen für Lungen und Herz finden sich bei Bischoff[1]), Volkmann[2]) und Robin[3]) (nur Lunge) für den Menschen, bei Nencki[4]), Engels[5]) und Wahlgren[6]) für den Hund.

[1]) Bischoff (korrigierte Zahlen bei Volkmann, Anm. [2]).

[2]) A. W. Volkmann, Ber. sächs. Akad. 1874, 202.

[3]) Robin, Bull. mens. Soc. études scient. sur la tuberculose 2, 1907.

[4]) Nencki und Schoumow Simanowsky, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 34, 313 (328), 1894.

[5]) Engels, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 51, 346ff., 1904.

[6]) Wahlgren, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 61, 97, 1909.

Der auffallend hohe Wert für den Wassergehalt des Darms (81,86%) beruht vielleicht auf einem Irrtum. Bei Bischoff (73%), Volkmann (78%), bei Engels (77,9%) und Wahlgren (73%) sind die Zahlen bedeutend niedriger, nur bei Nencki (79 bis 84%) ebenfalls hoch. Möglicherweise ist der zähe Belag auf der Darmschleimhaut, der aus Schleim und aus gerade zur Resorption vorbereiteten Nährstoffen besteht, nicht sorgfältig genug ausgedrückt worden.

Als ich einen leeren Schweinedarm energisch zwischen den Fingern durchlaufen ließ, erhielt ich reichliche Mengen Chymus. Da dieser ziemlich wasserreich ist, so wird seine Anwesenheit den Wassergehalt des Darms zu hoch erscheinen lassen. In dem Schweinedarm, in dem der Chymus durch das einmalige Anpressen vielleicht auch noch nicht vollständig entfernt worden war, fand ich 82,65% Wasser. — Der hohe Wert für den Hoden (86,6%) beruht sicher nicht auf einem analytischen Irrtum. Der Hoden ist wirklich sehr wasserreich. Die Pulpa eines Stierhodens durch eine Fleischmaschine gepreßt gab einen dünnen Brei, mit 85,6% Wasser. Der menschliche Hoden war fettreicher (4,51% Fett in der frischen Substanz) als der des Stieres (1,5%).

Die fettfreie Trockensubstanz betrug beim Menschenhoden nur 8,88%, beim Stierhoden aber 12,85%. Das Verhältnis von fettfreier Substanz zum Wasser war beim ersten 9,75, bei letzterem nur 6,66, immerhin auch bei diesem höher als in allen anderen Organen.

Eiweißgehalt. Der Stickstoffgehalt der fettfreien Trockensubstanz beträgt fast immer 15% (14,6 bis 15,4%). Das besagt nichts anderes, als daß der Eiweißgehalt 90 bis 95% der trockenen fettfreien Substanz, d. h. deren Hauptmasse ausmacht, 4 bis 5% kommen auf Mineralstoffe, und der Rest verteilt sich auf Glykogen und andere Stoffe. Nur bei der Schilddrüse habe ich einen kleineren Wert gefunden, 13,48% N gleich 84% Eiweiß, doch liegt hier nur eine einzige N-Analyse und somit die Möglichkeit eines Irrtums vor.

Der Fettgehalt der frischen Organe schwankte von 1,7 bis 21%. (Für das Gehirn habe ich diese Verhältnisse nicht berechnet, da die ätherlösliche Substanz des Gehirns eine ganz andere Bedeutung hat als das Fett der anderen Organe.) Die

Lunge ist stets fettarm, ebenso die Milz. Größeren Fettreichtum zeigten die Muskulatur, Speicheldrüse und Pankreas, den höchsten die Leber, mit 21 % in der frischen Substanz, 55 % in der Trockensubstanz. So hohe Werte, die fast jene erreichen, die man sonst nur im Tierexperiment (K-H-Karenz, Rosenfeld, Pankreasdiabetes u. ä.) gefunden hat, kommen also gelegentlich auch bei guter, nicht einseitiger Ernährung beim normalen Menschen vor.

Berechnung der Werte auf fettfreie Trockensubstanz.

Tabelle VI.

	In 100 g frischer Substanz				Fettfreie Trocken-Substanz	In 100 g fettfreier Trockensubstanz			
	Cl mg	Fe mg	Ca mg	Mg mg	g	Cl mg	Fe mg	Ca mg	Mg mg
1. Muskeln . . .	61	25,3	6,5	21,5	20,20	302	125	33,2	106,4
2. Herz	124	6,7	7,9	17,4	16,91	769	39,6	46,8	102,9
3. Gehirn	130,5	8,3	10,6	13,9	—	—	—	—	—
4. Lunge	260	67,2	16,9	7,4	18,3	1421	372	92,3	40,9
5. Leber	96	60,8	7,2	17,5	18,12	529,8	335,5	39,7	96,6
6. Milz	161	72,3	9,3	14,2	18,75	859	385,6	49,6	75,7
7. Niere	208	15,8	19,2	20,7	19,13	1087,5	82,6	100,4	108,2
8. Darm	61	13,3	13,5	7,4	11,61	525,4	114,6	116,3	63,7
9. Pankreas . . .	161	4,5	15,9	16,8	17,24	933	26,1	92,2	97,4
10. Speicheldrüse .	135	5,5	13,1	—	15,98	845	34,5	82,4	—
11. Schilddrüse . .	169	5,8	33,7 (?)	9,6	19,92	848	29,0	169,4	48,0
12. Hoden	226	4,5	8,3	9,5	8,88	2545	56,9	93,6	107

Ich gebe hier eine Zusammenstellung der Mineralstoffwerte in der korrekten Form der Ionen, und zwar für frische und für fettfreie Trockensubstanz.

Für gewöhnlich geschieht die Umrechnung auf die fetthaltige Trockensubstanz. Katz beruft sich darauf, daß „das Fett einen integrierenden Bestandteil der Muskelfasern ausmache". Ich halte das weder für die Muskeln noch für die anderen Organe, die markhaltigen Nervenfasen ausgenommen, für richtig. Zwar gehört zu jedem gesunden Organ ein gewisser Fettgehalt, aber das Fett ist in seiner Hauptmasse nicht als funktionierender Bestandteil mit dem Protoplasma verbunden, sondern ist in Form kleinerer oder größerer Tropfen als tote Masse eingesprengt. Es ist als reines Fett darin enthalten und führt weder Wasser noch Mineralstoffe. Der verschiedene Gehalt an Fett aber kann die Zahlen für Trocken-

substanz außerordentlich beeinflussen und unter Umständen irrige Verhältnisse vortäuschen. Ein Muskel kann beispielsweise 2, er kann aber auch $20^0/_0$ Fett in der frischen Substanz enthalten. Seine Zusammensetzung sei etwa (schematisches Beispiel):

	H_2O	Tr.-S. fetthaltig	Tr.-S. fettfrei	Fett	Eiweiß	Asche	Asche in fetthaltig. Trockensubstanz	Asche in fettfreier Trockensubstanz
a)	77	23	21	2	20	1	4,35	4,8
b)	65,1	34,9	17,9	17	17	0,9	2,6	5,03

Während der Aschengehalt in der frischen Substanz beim fettarmen und -reichen Organ nicht sehr verschieden ist, erscheint er sehr ungleich, wenn man ihn auf fetthaltige Trockensubstanz bezieht (2,6 gegen $4,35^0/_0$); dagegen werden die Zahlen nahezu übereinstimmen, wenn wir sie auf fettfreie Trockensubstanz beziehen (5,0 gegen $4,8^0/_0$). Mit anderen Worten, die Mineralstoffe stehen nur in Beziehung zum Protoplasma der Zellen (und zu dem sie durchtränkenden Paraplasma), sie beeinflussen deren Funktion, und starke Anhäufung oder Abnahme kann zu ihrer Schädigung führen. Deshalb sollte eine Berechnung in der Trockensubstanz nur auf die fettfreie Masse geschehen. Das tropfige Reservefett hat mit der Funktion der Zellen so gut wie nichts zu tun, außer den Lipoiden, die wir ja bei der üblichen Art der Analyse unter Fett mit einbeziehen. Lecithin und Cholestearin machen aber bei größerem Fettgehalt einen sehr geringen Teil des Gesamtfettes aus.

Schwankungen des Mineralstoffgehaltes gesunder Organe.

Innerhalb welcher Grenzen der Gehalt an Mineralstoffen in gesunden Organen schwankt, insbesondere beim Menschen, wird sich erst übersehen lassen, wenn ein größeres Material vorliegt. Meine Werte für Muskeln und Lunge stimmen recht gut überein mit denen von Katz und Robin (s. d. Tabelle).

Bezüglich der Schwankungen des Chlorgehaltes vergleiche man die Werte, die Wahlgren bei 6 Hunden erhielt. Der Chlorgehalt in Milligramm auf 100 g frisches Organ schwankte innerhalb folgender Grenzen:

Darm	158	bis	179	Muskel	67,3	bis	78,8
Leber	113	„	137	Lunge	233	„	264
Niere	211	„	306	Gehirn	166	„	214

Die Abweichungen sind also nicht übermäßig groß. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei Nencki, nur daß hier die Größenordnung ganz anderer Art ist als bei dem eben genannten.

Bezüglich der sehr großen Unterschiede zwischen den Werten Wahlgrens und Nenckis verweise ich auf eine demnächstige Arbeit über Cl-Bestimmung. Ob der Gehalt an anderen Mineralstoffen stärker schwankt als der des Chlors, wissen wir nicht. Bezüglich der Kalkwerte vergleiche die Bemerkung auf Seite 374.

Zum Schluß stelle ich noch der Übersichtlichkeit halber die Ergebnisse von Katz, Robin und mir für Muskeln und Lunge, für die unter den menschlichen Organen bisher die umfassendsten Untersuchungen vorliegen, in Tabelle VII zusammen.

Tabelle VII.

	Lunge			Muskeln	
	Robin		M.-L.	Katz	M.-L.
H_2O	80,10	(79,4—80,8)	80,0	72,5	72,2
Tr.-S.	19,90	(19,2—20,6)	20,0	27,5	27,8
N	2,426	(2,37—2,49)	2,676	—	3,056
Fett	2,72	(2,3—3,2)	1,7	—	7,56
Cl	0,243	(0,208—0,267)	0,260	0,070	0,061
P_2O_5	0,270	(0,260—0,282)		0,466	
SO_3	0,504			0,520	
CaO	0,026	(0,022—0,029)	0,0236	0,0105	0,0091
MgO	0,015	(0,014—0,016)	0,0123	0,0351	0,0358
Fe	0,044	(0,033—0,050)	0,067	0,0147	0,0253
K_2O	0,147	(0,126—0,167)		0,386	
Na_2O	0,244	(0,192—0,265)		0,108	
Si (Silice)		(0,018—0,019)			
auf 100 fettfreie Tr.-S. N	14,1		14,6		15,12

Über einen neuen Indicator, α-Naphtholphthalein, mit Umschlag in der Nähe des Neutralpunktes.[1])

Von

S. P. L. Sörensen und S. Palitzsch.

(Aus dem Carlsberg-Laboratorium, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 14. Februar 1910.)

In einer früheren Abhandlung[2]) haben wir den Wunsch nach einer Ergänzung der für die Phosphatmischungen anwendbaren Indicatoren geäußert, indem wir für die alkalischsten Phosphatmischungen nur einen brauchbaren Indicator gefunden haben, das p-Benzolsulfonsäure-azo-α-naphthol. Dieser Indicator, dessen Umschlagsbereich ins Gebiet der Phthaleingruppe hineingreift, scheint sogar in Gegenwart genuiner Proteinstoffe brauchbar zu sein; unglücklicherweise aber läßt sein Umschlag an Schärfe zu wünschen übrig. Bei einigen in der folgenden Abhandlung besprochenen colorimetrischen Messungen einer Reihe von Meerwasserproben, deren Wasserstoffionenkonzentrationen häufig in dem hier genannten Gebiet lagen, machte sich dieses Bedürfnis eines angemessenen Indicators sehr stark fühlbar. Wir suchten deshalb einen neuen Indicator, der den Platz des p-Benzolsulfonsäure-azo-α-naphthols, Nr. 16 in der Indicatorreihe[3]), ausfüllen könnte. Einen dafür geeigneten ausgezeichneten Indicator haben wir in dem α-Naphtholphthalein gefunden, das sich natürlich dem Phenol- und Thymolphthalein anschließt; während aber diese beiden, und zwar besonders das letztere, ihre Umschlagszone bei einer ausgeprochen alkalischen Reaktion haben, erstreckt sich der Umschlagsbereich des α-Naphtholphthaleins beinahe bis an den Neutralpunkt (siehe Seite 386 oben).

---

[1]) Wird gleichzeitig in französischer Sprache in den Compt. rend. du lab. de Carlsberg 9, 1910, veröffentlicht.

[2]) S. P. L. Sörensen, diese Zeitschr. 21, 248, 1909.

[3]) S. P. L. Sörensen, l. c., S. 253, 254.

α-Naphtholphthalein wurde im Jahre 1871 von Julian Grabowski[1]) dargestellt, und zwar durch Erwärmung von Phthalylchlorid und α-Naphthol, Erschöpfen der gebildeten grünen Masse mittels Kalilauge, fraktionierter Fällung der Lösung durch Salzsäure und Umkrystallisation des Produktes aus Benzol. Die erhaltenen kleinen braunen Krystalle, die in Kalilauge mit schöner blauer Farbe löslich waren, zeigten nach dem Trocknen bei 100 bis 110° die Zusammensetzung $C_{28}H_{18}O_4 + \frac{1}{2} H_2O$. Außer dieser kurz gefaßten Mitteilung (sie füllt in allem nur 15 Zeilen) Grabowskis haben wir in der Literatur weiter nichts über diesen Körper gefunden.

Bei der Darstellung des α-Naphtholphthaleins haben wir den von Grabowski angewiesenen Weg eingeschlagen, indem wir wie folgt verfuhren:

$^1/_4$ Gramm-Molekül α-Naphthol (36 g) und $^1/_8$ Gramm-Molekül Phthalylchlorid (25,4 g) wurden in einer geräumigen (2 l) Porzellanschale mittels eines Pistills gut zusammengerieben, wodurch schon bei gewöhnlicher Temperatur eine lebhafte Entwickelung von Chlorwasserstoff sich bemerkbar machte. Nach viertelstündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur wurde $^1/_2$ Stunde auf schwach siedendem und schließlich $^1/_2$ Stunde auf stark siedendem Wasserbad erwärmt, indem die Masse, die nach und nach zäher wurde, in kurzen Zwischenräumen tüchtig gerieben wurde.

Das Reaktionsprodukt wurde mit 1 l Wasser und 100 ccm 2 n-Natriumhydroxydlösung übergossen, und dann auf dem Wasserbade langsam erwärmt. Das gebildete α-Naphtholphthalein ging durch diese Behandlung mit tiefblauer Farbe in Lösung, während eine rotbraune Masse, die während des Erwärmens nach und nach schmolz, zurückblieb. Nach viertelstündiger Erwärmung auf siedendem Wasserbade unter gutem Umrühren der ungelösten, geschmolzenen Masse wurde in kaltem Wasser gekühlt, die jetzt völlig feste, ungelöste Masse abfiltriert und ein paarmal mit ein wenig Wasser gewaschen. Das ungelöste rotbraune Produkt, das noch etwas α-Naphtholphthalein enthielt, wurde gut pulverisiert, mit 1 l Wasser und 50 ccm 2 n-Natriumhydroxydlösung übergossen, und wieder langsam und unter stetem Rühren zuerst auf schwach und zuletzt auf lebhaft siedendem Wasserbad erwärmt. Nach Abkühlung wurde dann die gebildete blaue Lösung zur Hauptportion filtriert. Der ungelöste Rest wurde noch zweimal in derselben Weise behandelt, jedesmal mit 1 l Wasser und 50 ccm 2 n-Natriumhydroxydlösung.

Nach der letzten Behandlung enthielt der ungelöste, rote Rest, der in pulverisiertem, lufttrockenem Zustande 15 g wog und unter anderem das beim Prozesse gebildete α-Naphtholfluoran enthalten muß, nur kleine Mengen α-Naphtholphthalein.

Die vermischten, blauen, stark alkalischen Lösungen vom α-Naphtholphthalein wurden unter gutem Rühren mit 400 ccm $^n/_2$-Salzsäure versetzt, was keinen bleibenden Niederschlag hervorbrachte. Danach wurde Kohlen-

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 4, 725.

säure eingeleitet, wodurch das α-Naphtholphthalein nach und nach als ein voluminöser, rötlicher Niederschlag ausfiel, während die beim Prozesse gebildete Phthalsäure in Lösung blieb. Die rötlichgelbe Mutterlauge wurde von dem ausgefällten Farbstoff abgesaugt und dieser mit kohlensäurehaltigem Wasser gut gewaschen. Zwecks weiterer Reinigung wurde der Niederschlag in $^1/_2$ l $^4/_{10}$ n-Barytlösung gelöst; nach Filtrierung von etwas ungelöstem Bariumsalz wurde die tief blaue Lösung mit Salzsäure schwach übersättigt, der Niederschlag abgesaugt, mit Wasser chlorfrei gewaschen und an der Luft getrocknet. Ausbeute: 11 g.

Das solchermaßen erhaltene Präparat ist hinlänglich rein, um bei vielen Gelegenheiten als Indicator dienen zu können; es enthält aber noch etwas α-Naphthol und andere in Benzol leicht lösliche Verunreinigungen nebst einer kleinen Menge eines in Benzol sehr schwer löslichen Körpers, der mit Alkalien eine grüne und nicht eine blaue Lösung gibt.

Um völlig gereinigt zu werden wurde das Präparat im Soxhletschen Apparat mit Benzol behandelt. Die ersten Auszüge, die die leicht löslichen Unreinigkeiten enthielten, wurden beseitigt. Das α-Naphtholphthalein ging nur langsam in Lösung und schied sich nach und nach in Form einer Krystallkruste am Boden des Kolbens aus. Da die Masse geneigt war, in der Filterhülse zusammenzubacken, wurde es notwendig, ein paarmal den Inhalt der Hülse in Alkohol zu lösen und die Lösung auf dem Wasserbade wieder zur Trockne zu verdampfen; der Verdampfungsrückstand mit Benzol verrieben wurde in eine neue Filterhülse gebracht. Die Extraktion wurde fortgesetzt, bis eine kleine Probe der in der Filterhülse befindlichen Masse nach Lösung in Alkohol und Verdünnung mit Wasser mit etwas Natronlauge versetzt eine grüne und keine blaue Farbe mehr gab.

Nach Beendigung der Extraktion wurde das Benzol abgegossen, der in dem Kolben befindliche Krystallkuchen in Alkohol gelöst und die alkoholische Lösung bis zur Trockne verdampft. Der trockene Rückstand wurde pulverisiert, mit Benzol verrieben, ein paarmal damit gewaschen, und schließlich zuerst an der Luft und später im Vakuum bei 100 bis 110° bis zum konstanten Gewicht getrocknet. Ausbeute: 4 bis 5 g.

Der Körper erschien als ein blaßrotes bis gräulich-rotes Pulver, das noch eine ganz kleine Menge Asche enthielt, dessen Zusammensetzung übrigens aber der Formel des wasserfreien Naphtholphthaleins

$$\begin{array}{ccc} & C:(C_{10}H_6OH)_2 & \\ C_6H_4 & & O \\ & CO & \end{array}$$

entsprach.

0,1064 g Substanz gaben durch Verbrennung 0,0419 g Wasser, 0,3114 g Kohlensäure und 0,0005 g Asche, was, auf aschefreie Substanz berechnet, 4,43 $^0/_0$ Wasserstoff und 80,20 $^0/_0$ Kohlenstoff entspricht.

In derselben Weise gaben 0,1275 g Substanz 0,0505 g Wasser (4,45 $^0/_0$ Wasserstoff), 0,3729 g Kohlensäure (80,14 $^0/_0$ Kohlenstoff) und 0,0006 g Asche.

		Berechnet	Gefunden	
C_{28}	336,00	80,36	80,20	80,14
H_{18}	18,14	4,34	4,43	4,45
O_4	64,00	15,30		
	418,14	100,00		

Der im Vakuum bei 100 bis 110° getrocknete Stoff ist somit wasserfrei, und auch der an der Luft getrocknete enthält kein Wasser (man vergleiche die obengenannte Formel Grabowskis mit $^1/_2$ Mol. Krystallwasser), dagegen aber Krystallbenzol. Einen Teil davon gibt er schon beim Liegenlassen an der Luft oder bei Aufbewahrung — etwas schneller im Vakuum bei Zimmertemperatur — ab; das Ganze wird aber erst beim Trocknen im Vakuum bei 100 bis 110° leicht und vollständig abgegeben. Der größte Gewichtsverlust, den wir bei einem solchen Trocknen wahrgenommen haben, beträgt 15,42%, gewöhnlich ist er aber viel kleiner; für 1 Mol. Krystallbenzol berechnet sich der Verlust zu 15,73%.

Daß es sich hier um einen Verlust an Benzol und nicht an Wasser, Alkohol oder irgend einem anderen sauerstoffhaltigen Körper handelt, ist einfach daraus zu ersehen, daß der Körper vor dem Trocknen kohlenstoff- und wasserstoffreicher, somit sauerstoffärmer ist als nach demselben. Wir können z. B. anführen, daß ein Präparat, das beim Trocknen 3,89% an Gewicht verlor, vor dem Trocknen einen Gehalt von

a) 4,78% Wasserstoff und 80,86% Kohlenstoff,
b) 4,76% „ „ 80,90% „

hatte.

Für Naphtholphthalein mit einem Gehalt von 3,89% Benzol berechnet sich ein Gehalt von

4,47% Wasserstoff und 80,82% Kohlenstoff.

Das von Benzol befreite α-Naphtholphthalein schmolz auf dem „Bloc Maquenne" im Laufe von 5 Sekunden bei 253 bis 255°.

Noch ist zu bemerken, daß, während die Lösung des Körpers in Benzol rotgelb ist, hingegen das mit Benzol befeuchtete Pulver eine rotviolette und das lufttrockene eine grauviolette Farbe zeigt; erst nachdem alles Benzol abgegeben ist, wird diese blaßrot bis graurot.

Als Indicatorlösung wurde eine Lösung von 0,1 g im Vakuum bei 100° bis 110° getrocknetem α-Naphtholphthalein in 150 ccm Alkohol + 100 ccm Wasser benutzt. Zu 10 ccm Versuchsflüssigkeit wurden 4 bis 12, gewöhnlich 8 Tropfen gegeben.

Mit diesem Indicator versetzt sind ausgesprochen saure Flüssigkeiten beinahe farblos, schwach saure Flüssigkeiten rötlich, schwach alkalische grünlich und stark alkalische blau.

Mit 8 Tropfen der Indicatorlösung ist

„1 sek."[1]) sozusagen farblos,
„2 sek." hat einen gelblichen oder rötlichen Ton, der nach und nach stärker wird, bis
„7,5 sek.", die zugleich einen grünlichen Schimmer zeigt.

---

[1]) Diese Zeitschr. 21, 175, 202 und 22, 355, 1909.

Betreffs der folgenden stärker alkalischen Phosphat- und der entsprechenden Boratmischungen wechselt die Farbe durch schöne und charakteristische Nüancen (olivengrün — grün — bläulichgrün — grünlichblau — blau) bis

„8 Borat + HCl",

die eine beinahe rein blaue Farbe hat.

Tabelle.

Zusammensetzung der untersuchten Lösung	Färbung der Vergleichsflüssigkeiten	Elektrometrisch gefundenes p_H	Colorimetrische Messung mit α-Naphtholphthalein	
			p_H	Bemerkung
2 %ige Leimlösung + Phosphat + NaOH + NaCl (0,1 n-Chlorid)	2 Tr. Bismarckbr. 2 Tr. Helianthin II	7,49	7,45	Vorzüglicher Umschlag
do.	do.	7,77	7,73	do.
2 %ige Lösung von Witte-Pepton + NaOH + NaCl (0,1 n-Chlorid)	2 Tr. Bismarckbr. 3 Tr. Helianthin II	7,80	7,71	do.
do.	3 Tr. Bismarckbr. 3 Tr. Helianthin II 1 Tr. $BaSO_4$	7,82	7,70	do.
2 %ige Lösung von zum Teil pepsingespaltenem Hühnereiweiß + NaOH + NaCl (0,1 n-Chlorid)	2 Tr. Helianthin II	7,64	7,56	do.
do.	do.	8,11	8,04	do.
2 %ige Lösung von zum Teil pepsingespaltenem Casein + NaOH + NaCl (0,1 n-Chlorid)	1 Tr. Bismarckbr.	7,73	7,66	do.
do.	do.	8,11	8,16	do.
2 %ige Lösung von genuinem Hühnereiweiß + NaOH + NaCl (0,1 n-Chlorid)	1 Tr. Bismarckbr. 2 Tr. Helianthin II	8,69	8,39	Wenn diese Lösungen nur mit derselben Indicatormenge (8 Tr.) wie die Vergleichsflüssigkeiten versetzt wurden, dann waren die ersteren deutlich schwächer gefärbt als die letzteren; erst nachdem die ersteren 2 bis 4 Tr. mehr als die letzteren erhielten, wurde die Farbstärke die gleiche.
do.	do.	8,79	8,71	
do.	do.	8,78	8,24	
2 %ige Lösung von Casein + NaOH + NaCl (0,1 n-Chlorid)	1/2 Tr. Bismarckbr. 1 Tr. $BaSO_4$	8,54	7,78	

Der Indicator hat einen guten Umschlag zwischen „7,5 sek.“ ($p_{H^{\cdot}} = 7,26$) und „7,0 Borat + HCl“ ($p_{H^{\cdot}} = 8,68$).

Die Fehlerquellen bei der Benutzung dieses Indicators sind derselben Art und Bedeutung wie beim Phenolphthalein.

Über den Einfluß der Neutralsalze sowohl als auch über die Änderungen der Stärke bzw. Nüance der Indicatorfarbe sei auf die folgende Abhandlung verwiesen.[1])

Den Einfluß von Toluol bzw. Chloroform haben wir in der früher beschriebenen Weise[2]) mit Benutzung teils der Mischung „9,1 sek.“, teils der Mischung „6,0 Borat + HCl“ untersucht. Es ließen sich keine Unterschiede nachweisen zwischen der unbehandelten und der vor dem Zusatz des Indicators mit Toluol oder Chloroform geschüttelten und nachher filtrierten Lösungen. Durch reichliche Mengen von Toluol bzw. Chloroform ließ sich aber der Indicator so gut wie vollständig aus der Lösung ausschütteln.

Was den Einfluß der Proteinstoffe und der Abbauprodukte derselben betrifft, so verweisen wir auf die vorhergehende tabellarische Zusammenstellung einer Reihe vergleichender elektrometrischer und colorimetrischer Messungen.

Es erhellt aus der Tabelle, daß α-Naphtholphthalein in der hier erwähnten Beziehung sich wie die beiden früher untersuchten Phthaleine, das Phenol- und das Thymolphthalein[3]), verhält. In den Versuchen, wo nur Abbauprodukte der Proteinstoffe gegenwärtig waren, leistet der Indicator vorzügliche Dienste, während die genuinen Proteinstoffe bei der colorimetrischen Messung zu bedeutenden Fehlern Anlaß geben konnten. Wie schon in der Tabelle angedeutet, scheint es, als ob die genuinen Proteinstoffe sich mit einem Teil des zugesetzten Indicators zu ungefärbten oder wenig gefärbten Körpern verbinden, so daß es — um überhaupt eine Einordnung der Proteinstofflösung unter die Vergleichsflüssigkeiten vornehmen zu können — notwendig ist, die erstere mit mehr Indicatorlösung als die letzteren zu versetzen, und dieser Umstand schon macht selbstverständlich eine genaue Messung unmöglich.

[1]) Diese Zeitschr. 24, 398 und 411, 1910.
[2]) Diese Zeitschr. 21, 211, 1909.
[3]) Diese Zeitschr. 21, 249, 1909.

Über die Messung der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers.

Von

S. P. L. Sörensen und S. Palitzsch.[1])

(Aus dem Carlsberg-Laboratorium, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 14. Februar 1910.)

Wie in einer früheren Abhandlung[2]) über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Prozessen mehrmals hervorgehoben ist, kann es kaum bezweifelt werden, daß die Wasserstoffionenkonzentration ein bei keinen biologischen Prozessen zu vernachlässigender Faktor ist. Für das Verständnis der Biologie des Meerwassers ist demgemäß die Kenntnis seiner Wasserstoffionenkonzentration von nicht zu unterschätzender Bedeutung. Es ist uns deshalb eine Freude gewesen, auf Aufforderung der Herren Prof. Dr. O. Pettersson, Stockholm, und Doc. M. Knudsen, Kopenhagen, Mitglieder des „Conseil permanent international pour l'exploration de la mer", eine Methode auszuarbeiten, mittels der die Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers bequem und zugleich einigermaßen genau sich bestimmen läßt.

Da die Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers niemals von dem Neutralpunkte weit entfernt ist, so können von den uns bekannten Meßmethoden nur die folgenden zwei in Frage kommen, nämlich die elektrometrische und die colorimetrische Methode. Das Prinzip sowohl als auch die Einzelheiten der Ausführung dieser beiden Methoden sind

---

[1]) Wird gleichzeitig in französischer Sprache in den Compt. rend. du lab. de Carlsberg 9, 1910, veröffentlicht.

[2]) S. P. L. Sörensen, Enzymstudien, II. Mitteilung. Diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

in der obengenannten Abhandlung S. P. L. Sörensens beschrieben und können wir uns deshalb insofern mit einem Hinweis auf dieselbe begnügen; der Kürze halber wird sie künftig durch „Enz. II" bezeichnet.

Die im Meerwasser gegenwärtige Menge von sauren und normalen Carbonaten dient als eine Schutzwehr gegen zu große und zu schroffe Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration. Ohne diesen „Puffer" (Enz. II, S. 187) würde selbst eine ganz kleine Zufuhr von Säuren oder Basen eine außerordentlich große Änderung der Wasserstoffionenkonzentration hervorrufen. Die Gegenwart der Carbonatmischung verhindert aber dieses dadurch, daß die zugeführte Säure bzw. Base zunächst eine äquivalente Menge Kohlensäure freimacht, bzw. bindet, was eine weit geringere Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration verursacht. Nichtsdestoweniger wird eine Aufnahme bzw. eine Abgabe selbst kleiner Mengen Kohlensäure bei Berührung der Atmosphäre gewöhnlich eine leicht nachweisbare Änderung der Wasserstoffionenkonzentration mit sich führen, und demzufolge wird es notwendig, die Messung der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers gleichzeitig mit der Entnahme der Wasserprobe auszuführen, um eine Konzentrationsänderung durch Aufnahme bzw. Abgabe von Kohlensäure oder durch Aufnahme alkalischer Bestandteile des Glases während der Aufbewahrung zu vermeiden. Die Messung muß somit an Bord ausgeführt werden, und schon aus diesem Grunde wird es kaum praktisch sein, die elektrometrische Meßmethode anzuwenden. Hierzu kommt noch, daß eine solche kohlensäure- und carbonathaltige Salzlösung wie das Meerwasser mittels der üblichen elektrometrischen Methode mit Wasserstoffdurchleitung sich nicht genau messen läßt. Es erhellt aus ein paar der im experimentellen Teil dieser Abhandlung angeführten Beispiele, daß das Meerwasser sich in dieser Beziehung ganz wie eine Lösung von Natriumbicarbonat verhält (Enz. II, S. 191), die während der elektrometrischen Messung mehr und mehr alkalisch wird, weil die Kohlensäure nach und nach durch den Wasserstoff ausgetrieben wird.

Etwas besser stellt sich die Sache, wenn man eine etwas abgeänderte Modifikation des elektrometrischen Verfahrens benutzt (Enz. II, S. 193). Das Elektrodengefäß wird beim An-

fang des Versuches mit der zu untersuchenden Flüssigkeit ganz gefüllt und luftdicht verschlossen, wonach so viel Wasserstoff zugeleitet wird, daß das Niveau im Elektrodengefäß bis zu einem bestimmten Punkte sinkt, so daß ein Teil der Platinelektrode mit Wasserstoff umgeben ist. Bei diesem Verfahren werden wesentliche Mengen Kohlensäure nicht ausgetrieben; es dauert aber gewöhnlich sehr lange (6 bis 8 Stunden oder mehr), bis die elektromotorische Kraft konstant wird. W. E. Ringer[1]), der einzige, der unseres Wissens sich mit Messung der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers beschäftigt hat, benutzt ein solches Verfahren, läßt aber, um einer konstanten elektromotorischen Kraft sicher zu sein, die Messung über 24 Stunden sich erstrecken.

Weit bequemer und schneller ist die colorimetrische Messung auszuführen; es liegt aber in der Natur der Methode, daß sie hinter der elektrometrischen an Genauigkeit zurücksteht, vorausgesetzt, daß die vorliegende Flüssigkeit der letzteren Methode gegenüber sonst keine Schwierigkeiten darbietet (Enz. II, S. 190). Hierzu kommt noch, daß die Flüssigkeit, deren Messung den Gegenstand der gegenwärtigen Abhandlung bildet, reichliche aber nicht immer gleiche Mengen von Kochsalz enthält, was bei der colorimetrischen Messung einen größeren oder kleineren „Salzfehler" bewirkt (Enz. II, S. 208). Andererseits ist das Meerwasser farblos und eignet sich deshalb in dieser Beziehung vorzüglich für die colorimetrische Messung, und schließlich verfügt man jetzt[2]) über eine vollständige Reihe vorzüglicher Indicatoren mit scharfen Umschlägen auch bei denjenigen Wasserstoffionenkonzentrationen, von denen bei Untersuchungen von Meerwasser die Rede ist. Wäre es möglich, unter diesen für die colorimetrische Messung übrigens so günstigen Umständen den „Salzfehler" zu eliminieren oder eine genaue Korrektion desselben einzuführen, so würde damit die wesentliche methodische Fehlerquelle der colorimetrischen Messungsmethode weggeschafft sein. Man hätte danach hauptsächlich nur mit derjenigen Fehlerquelle zu rechnen, die der Methode

[1]) Verhandelingen uit het Rijksinstituut voor het onderzoek der zee. 1908.

[2]) Siehe die vorstehende Abhandlung: „Über einen neuen Indicator, α-Naphtholphthalein, mit Umschlag in der Nähe des Neutralpunkts."

selbst anhaftet und die in der mit dem genauen Vergleich verschiedener Farbnuancen oder Farbstärken verknüpften Schwierigkeit ihren Grund hat. Die Unsicherheit, die dieser Fehlerquelle wegen der colorimetrischen Messung anhaftet, ist indessen unter den hier erwähnten Umständen (farblose, für colorimetrische Messung sich vorzüglich eignende Lösungen und scharfe Indicatoren) so unbedeutend, daß der Messungsfehler gewöhnlich nicht $\pm$ 0,05 überschreitet, und jedenfalls niemals $\pm$ 0,10 im Werte des Wasserstoffionenexponenten erreicht (Enz. II, S. 221).

Die von uns ausgearbeitete Methode zur Messung der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers läuft demgemäß auf eine Elimination des Salzfehlers bei der colorimetrischen Messung hinaus (Enz. II, S. 201). Wir brauchen Phosphat- oder Boratmischungen als Vergleichsflüssigkeiten und p-Nitrophenol, Neutralrot, α-Naphtholphthalein und Phenolphthalein als Indicatoren.

Um den „Salzfehler" dieser Indicatoren zu bestimmen, haben wir das schon in der öfters zitierten Abhandlung (S. 192) von S. P. L. Sörensen kurz skizzierte Verfahren benutzt. Eine Probe Meerwasser von bekanntem Salzgehalt wurde mittels $^n/_5$-Salzsäure schwach aber deutlich sauer gemacht, wonach eine Durchleitung von Wasserstoff die Kohlensäure hinaustrieb. Wenn jetzt die Flüssigkeit durch kohlensäurefreie Natriumhydroxydlösung ganz oder zum Teil neutralisiert wurde, und die Wasserstoffionenkonzentration durch Zusatz einer kleinen Portion eines passenden Puffergemisches (Citrat- oder Boratmischungen) nach Wunsch festgelegt und während des ganzen Versuches festgehalten worden war, so könnte die dermaßen behandelte Wasserprobe aufs genaueste gemessen werden, sowohl elektrometrisch als auch colorimetrisch. Der „Salzfehler" war dann die Differenz zwischen den zwei Messungen, indem sowohl die Verdünnung des Meerwassers als auch die Salzwirkung der zugefügten kleinen Mengen von Salzsäure, Natriumhydroxyd und Puffermischung vernachlässigt werden konnten, da die von diesen Faktoren herrührende Korrektion höchstens nur 0,01 vom Werte des Wasserstoffionenexponenten betragen konnte. Betreffs der Einzelheiten des Verfahrens sei auf die im experimentellen Teile angeführten Beispiele verwiesen.

Weil selbst für das salzreichste Meerwasser und unter Anwendung salzempfindlicher Indicatoren der Salzfehler immer nur verhältnismäßig klein ist (0,1 bis 0,2 im Werte des Wasserstoffionenexponenten), so wird eine geringe Änderung, z. B. von einigen Promillen, des Salzgehalts ihn nicht oder kaum merkbar beeinflussen; dazu ist die colorimetrische Messung nicht genügend scharf. Es wäre deshalb nicht zweckentsprechend, wenn man bei der Festsetzung der Größe des Salzfehlers eine Anzahl Meerwasserproben, deren jede einen von den übrigen verschiedenen Salzgehalt hätte, benutzen würde; die verhältnismäßig großen Fehler der Einzelbestimmungen würden die Übersichtlichkeit beeinträchtigen. Wir haben einen anderen und vermeintlich bessern Weg eingeschlagen, indem wir unsere Bestimmungen ausschließlich mit Wasserproben von entweder ca. 35°/₀₀ oder mit ca. 20°/₀₀ Salzgehalt ausgeführt haben. Dadurch haben wir eine vielmalige Bestimmung des Salzfehlers bei demselben Salzgehalt erreicht, so daß der gefundene Mittelwert des Salzfehlers gewiß nur mit ganz unwesentlichen Fehlern behaftet ist. Wir haben Meerwasser mit ca. 35°/₀₀ Salz einer besonders sorgfältigen Untersuchung unterzogen, teils weil weitaus der größte Teil des Meerwassers annäherungsweise diesen Salzgehalt hat, und teils auch weil es von besonderem Interesse ist, die entsprechende obere Grenze des Salzfehlers so genau als irgend möglich bestimmt zu haben. Für diese Versuche haben wir Wasserproben aus weit verschiedenen Teilen des Atlantischen Meeres mit angrenzenden Fahrwassern benutzt. Nebenher haben wir, wie oben gesagt, auch den Salzfehler bei Messung einer Reihe Meerwasserproben mit etwa 20°/₀₀ Salz bestimmt. Die Proben stammten sämtlich vom westlichsten Teil der Ostsee und waren die salzärmsten der Proben, die zu unserer Verfügung standen. Das im experimentellen Teil angeführte Zahlenmaterial wird zeigen, daß der Salzfehler bei Meerwasser von 20°/₀₀ Salzgehalt etwas kleiner ist als bei solchem von 35°/₀₀; andererseits aber ist der Unterschied so geringfügig, daß eine Interpolation für einen zwischenliegenden Salzgehalt leicht und genau auszuführen ist, und auf dieselbe Weise wird sich eine angemessene Extrapolation für einen kleineren Salzgehalt als 20°/₀₀ ohne wesentlichen Fehler bewerkstelligen lassen (s. S. 398 und S. 410, Anm.).

Es folgt von selbst, daß der Salzfehler für die verschiedenen Indicatoren verschieden ist, und daß er deshalb für jeden einzelnen der zur Anwendung gekommenen hat bestimmt werden müssen. Ebenfalls stand zu erwarten, daß der Salzfehler bei derselben Wasserprobe und demselben Indicator auch von der Art der gebrauchten Vergleichslösungen abhängig sein würde. In dem einzigen Falle, wo wir genötigt gewesen sind, zwei verschiedene Arten von Vergleichsflüssigkeiten, aber ein und denselben Indicator zu gebrauchen (Phosphat- und Boratmischungen mit α-Naphtholphthalein als Indicator), haben wir denn auch gefunden, daß der Salzfehler bei den zwei verschiedenen Vergleichsflüssigkeiten von ungleicher Größe war. Dagegen haben wir eine von dem verschiedenen Mischungsverhältnisse derselben Art Vergleichsflüssigkeiten und von der dadurch bedingten verschiedenen Wasserstoffionenkonzentration herrührende Änderung des Salzfehlers nicht nachweisen können, und zwar haben wir z. B. für p-Nitrophenol den gleichen Salzfehler gefunden, gleichgültig, ob das Meerwasser, wenn colorimetrisch gemessen, bei „1 sek." oder bei „3 sek." (siehe Enz. II, S. 202) lag. Bei der Bestimmung des Salzfehlers haben wir deshalb immer gesucht, die Wasserstoffionenkonzentration dermaßen festzulegen, daß der Indicator, dessen Salzfehler zu bestimmen war, bei eben dieser Wasserstoffionenkonzentration einen guten Umschlag zeigte (vgl. S. 405 Anm.).

Nachdem wir den Salzfehler der verschiedenen Indicatoren bestimmt hatten, waren wir imstande, die notwendige Korrektion bei der colorimetrischen Messung der Wasserstoffionenkonzentration im Meerwasser einzuführen. Ein Beispiel wird das Verfahren am besten erläutern. Wie aus dem experimentellen Teil der gegenwärtigen Abhandlung hervorgeht, ist die Korrektion des Salzfehlers bei colorimetrischer Messung von Meerwasser mit 35 $^0/_{00}$ Salz gleich $-0{,}12$, wenn p-Nitrophenol als Indicator und Phosphatmischungen als Vergleichsflüssigkeiten benutzt werden, was bedeutet, daß eine Meerwasserprobe, deren wahrer Wasserstoffionenexponent, $p_{H^\cdot}$ (durch eine genaue elektrometrische Messung ermittelt), z. B. gleich 6,12 ist, bei der colorimetrischen Messung dieselbe Farbstärke wie „2 sek.", dessen Wasserstoffionenexponent gleich 6,24 ist (Enz. II, S. 175), zeigen wird. Das richtige Resultat der colorimetrischen Messung be-

kommt man daher, wenn man nicht mit dem wahren Wasserstoffionenexponenten, 6,24, der Vergleichsflüssigkeit „2 sek.“, sondern mit dem wegen des Salzfehlers (— 0,12) korrigierten (6,24 — 0,12 = 6,12) rechnet. Im folgenden (die Tabellen I bis V, S. 398) findet man für jeden einzelnen Indicator, in tabellarischer Form zusammengestellt, teils die unkorrigierten, teils die um den Salzfehler sowohl bei einem Salzgehalt von 35 °/₀₀ als auch bei einem solchen von 20 °/₀₀ korrigierten Werte des Wasserstoffionenexponenten derjenigen Vergleichsflüssigkeiten, die bei Messung mittels des betreffenden Indicators in Betracht kommen.

Die colorimetrische Messung einer vorgelegten Probe Meereswasser wird dann ganz in derselben Weise ausgeführt, wie sie in S. P. L. Sörensens Abhandlung (S. 201 bis 204) ausführlich beschrieben ist; nur benutzt man nicht die unkorrigierten, sondern die korrigierten Werte des Wasserstoffionenexponenten der Vergleichsflüssigkeiten, und es hängt vom Salzgehalte der vorliegenden Wasserprobe ab, ob der um 35 °/₀₀ oder der um 20 °/₀₀ Salz korrigierte Wert oder vielleicht ein zwischen diesen Werten oder außerhalb derselben liegender Wert zu benutzen ist. Wir haben hier als selbstverständlich vorausgesetzt, daß Kohlensäure und Carbonate bei der colorimetrischen Messung keine besondere Rolle spielen und keine andere Bedeutung haben, als daß sie im Verein mit den sonstigen Bestandteilen des Meerwassers seine Konzentration an Wasserstoffionen bedingen. Die colorimetrische Messung des Meerwassers kann daher, wie oben erwähnt, ganz wie gewöhnlich ausgeführt werden; nur darf man nicht außer acht lassen, daß das Meerwasser, wie schon früher erwähnt (siehe S. 388), keine anderen Puffer über die anwesende Kohlensäure und die Carbonate hinaus enthält, und daß deshalb die Wafferstoffionenkonzentration durch Zu- bzw. Abfuhr von Kohlensäure geändert wird. Demzufolge muß man, wie schon früher erwähnt, die Wasserstoffionenkonzentration an Bord unmittelbar nach der Probenahme messen, und die bei der Messung zu benutzenden Reagenzgläser so weit als möglich mit einem Korke geschlossen halten.

Schließlich möchten wir die Aufmerksamkeit auf die in der Tabelle VI (S. 401) gegebene Zusammenstellung sämtlicher Meßresultate, auf denen die Korrektionen des Salzfehlers fußen,

lenken. Da diese Messungen alle mit solchem Meerwasser gemacht worden sind, in dem die Wasserstoffionenkonzentration während des ganzen Versuches dadurch konstant gehalten wurde, daß die Kohlensäure im voraus ausgetrieben und ein passender Puffer danach zugefügt worden war, so darf man annehmen, daß die elektrometrischen Messungen hier besonders genau sind. Vergleicht man jetzt die elektrometrisch gefundenen Werte des $p_{H^{\cdot}}$ mit den colorimetrisch (unter Anwendung der in den Tabellen I bis V gegebenen, um den Salzfehler korrigierten Werte der Wasserstoffionenexponenten der Vergleichsflüssigkeiten) ermittelten (die drei letzten Stäbe der Tabelle VI), so sieht man, daß die Abweichungen niemals mehr als $\pm$ 0,05 betragen und gewöhnlich viel kleiner sind. Da man bei einer colorimetrischen Messung der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers auf eine Genauigkeit von einigermaßen derselben Größenordnung rechnen darf, so glauben wir uns berechtigt, zu schließen, daß bei einer solchen sorgfältig ausgeführten Messung der Fehler nie mehr als $\pm$0,1 im Werte des Wasserstoffionenexponenten betragen und gewöhnlich weit geringer sein wird.

Eine Bekräftigung dieser Annahme finden wir bei der Betrachtung der in den Tabellen VII bis X (S. 404, S. 407) zusammengestellten colorimetrischen Messungen von Meerwasserproben, die den Aufbewahrungsflaschen direkt entnommen wurden. In diesen Tabellen zerstreut findet man eine nicht unbedeutende Anzahl von Doppelbestimmungen, wo dieselbe Wasserprobe mittels zwei verschiedener Indicatoren oder zwei verschiedener Vergleichsflüssigkeiten gemessen wurde, und in keinem Falle ist die Abweichung zwischen zwei solchen Messungen größer als 0,07 im Werte des Wasserstoffionenexponenten, gewöhnlich aber weit kleiner (siehe S. 404).

Experimenteller Teil.

Die zur Untersuchung vorliegenden Meerwasserproben waren die folgenden:

I. Eine Reihe Proben mit den Nummern 1 bis 44, von den Herren cand. mag. J. P. Jacobsen und Mechaniker H. J. Nielsen auf der Fahrt mit den Schiffen „C. F. Grove“ und „Falken“ in den dänischen Fahrwassern innerhalb Skagerrak

vom 1. bis zum 5. Februar 1909 entnommen. Die Proben waren in Flaschen aus gewöhnlichem grünem Flaschenglas aufbewahrt.

II. Eine Reihe Proben mit den Nummern 50 bis 73, die von dem Herrn Steuermann Willassen vom 28. Februar bis zum 24. März 1909 während der Fahrt des Schiffes „Laura" nach Island entnommen waren. Flaschen wie die Reihe I.

III. Eine Reihe Proben mit den Nummern 74 bis 98, die vom Herrn Steuermann Schmith vom 27. Februar bis zum 8. März 1909 während der Fahrt des Schiffes „United States" nach New York entnommen wurden. Flaschen wie die Reihe I.

IV. Eine Reihe Proben mit den Nummern 101 bis 120, die vom Herrn Dr. phil. Johs. Schmidt vom 16. Februar bis zum 14. März 1909 während der Reise des Schiffes „Thor" vom Mittelmeer nach Dänemark entnommen wurden. Die Proben waren in Halbliter-Sodawasserflaschen von bläulichem Glas aufbewahrt, ganz einzelne Flaschen waren jedoch farblos und offenbar aus einer anderen Sorte Glas (siehe S. 408). Alle Proben waren doppelt und bezeichnet mit a und b.

Die unter II, III und IV genannten Proben waren alle Oberflächenproben, die Proben aus den dänischen Fahrwassern dagegen waren in Tiefen von 0 bis 90 m entnommen.

Als erläuterndes Beispiel von dem Verfahren, das bei der Bestimmung der Korrektion des Salzfehlers befolgt wurde, werden wir die eine einzelne Wasserprobe betreffenden Messungen anführen.

Wasser vom Atlantischen Meer Nr. 93. Salzgehalt 35,95‰.

610 ccm Meerwasser wurden mit 11 ccm $^n/_5$-Salzsäure versetzt, wodurch die Flüssigkeit stark sauer wurde ($p_{H^\cdot} = 2{,}83$, colorimetrisch mittels p-Benzolsulfonsäure-azo-benzylanilin gemessen). Dann wurde alle Kohlensäure mittels Durchleitung von Wasserstoff von einem Tag bis zum nächsten ausgetrieben.

α) p-Nitrophenol; Phosphatmischungen.

150 ccm des von der Kohlensäure befreiten Meerwassers wurden mit 4,5 ccm $^n/_5$-Natriumhydroxydlösung, und danach, um die Wasserstoffionenkonzentration festzulegen, mit 7,5 ccm Citrat[1]) versetzt (Enz. II, S. 167, 5).

[1]) Am natürlichsten wäre es, Phosphatmischungen als Puffer zu benutzen; wir haben das aber nicht tun können, weil die Phosphatmischungen, und besonders die mehr alkalischen, im Meerwasser einen Niederschlag hervorrufen.

Die elektrometrische Messung ließ sich jetzt (vgl. S. 403) mit Genauigkeit ausführen. Schon nach einer Wasserstoffdurchleitung während 20 Min. war die elektromotorische Kraft beinahe konstant geworden, und der nach einer Wasserstoffdurchleitung während 1 Stunde gefundene Wert des π veränderte sich in den folgen $^5/_4$ Stunden nicht.

Gefunden $\pi = 0{,}6814$; $p_{H^\cdot} = 5{,}96$ (Enz. II, S. 160).

Bei der colorimetrischen Messung mit p-Nitrophenol als Indicator und mit den Phosphatmischungen 0,7 — 1,0 — 1,25 — 1,5 — 2,0 — 2,5 sek. (Enz. II, S. 205) als Vergleichsflüssigkeiten fanden wir das Meerwasser gleich

1,45 sek.; $p_{H^\cdot} = 6{,}08$.

Die Korrektion des Salzfehlers war daher 5,96 — 6,08 = — 0,12.[1])

Wir bemerken, daß die colorimetrische Messung hier wie immer mit der der elektrometrischen Messung unterzogenen Wasserprobe ausgeführt wurde, indem das Wasser aus dem Elektrodengefäß in mit kohlensäurefreier Luft gefüllte und mit Korken versehene Reagenzgläser übergeführt wurde.

β) Neutralrot-Phosphatmischungen.

150 ccm des von Kohlensäure befreiten Meerwassers wurden mit 2,6 ccm $^n/_5$-Salzsäure und 7,5 ccm Borat (Enz. II, S. 167, 7) versetzt.

Die elektrometrische Messung verlief wie unter α) angegeben.

Gefunden: $\pi = 0{,}7476$; $p_{H^\cdot} = 7{,}10$.

Bei der colorimetrischen Messung mit Neutralrot als Indicator und mit den Phosphatmischungen 5,0—5,5—6,0—6,5—7,0—7,5 sek. als Vergleichsflüssigkeiten fanden wir das Meerwasser gleich

6,15 sek.; $p_{H^\cdot} = 7{,}01$,

Korrektion: $7{,}10 - 7{,}01 = + 0{,}09$.

γ) α-Naphtholphthalein; Phosphatmischungen oder Boratmischungen.

150 ccm des von Kohlensäure befreiten Meerwassers wurden mit 2,1 ccm $^n/_5$-Salzsäure und 7,5 ccm Borat versetzt.

Die elektrometrische Messung verlief wie unter α) angegeben.

Gefunden: $\pi = 0{,}7846$; $p_{H^\cdot} = 7{,}75$.

Bei der colorimetrischen Messung mit α-Naphtholphthalein als Indicator und mit den Phosphatmischungen 8,75—9,0—9,2—9,4—9,6—9,75 sek. bzw. mit den Boratmischungen 5,3—5,4—5,5—5,6—5,8—6,0 Borat + HCl als Vergleichsflüssigkeiten fanden wir das Meerwasser gleich

---

[1]) Wir sind uns wohl bewußt, daß es vom mathematischen Gesichtspunkte aus nicht erlaubt ist, zwei Zehnerpotenzen durch Subtraktion der Exponenten zu subtrahieren, und auch nicht, wie wir es später gemacht haben, den Durchschnitt einer Reihe von Zehnerpotenzen durch den Durchschnitt der Exponenten auszudrücken. Unseres Dafürhaltens ist aber doch dieses Verfahren in diesem Falle nicht nur zulässig, sondern auch das Zweckdienlichste. (Vgl. Enz. II, S. 136 unten.)

9,3 sek.; $p_{H^{\cdot}} = 7,90$[1])
oder 5,55 Borat + HCl; $p_{H^{\cdot}} = 7,98$,

Korrektion (wenn Phosphatmischungen benutzt wurden) 7,75 — 7,90 = — 0,15,

Korrektion (bei Anwendung von Boratmischungen) 7,75 — 7,98 = — 0,23.

δ) Phenolphthalein; Boratmischungen.

150 ccm des von Kohlensäure befreiten Meerwassers wurden mit 0,5 ccm $^n/_5$-Natriumhydroxydlösung und 7,5 ccm Borat versetzt.

Die elekrometrische Messung verlief wie unter α) angegeben.

Gefunden: $\pi = 0,8356$; $p_{H^{\cdot}} = 8,63$.

Bei der colorimetrischen Messung mit Phenolphthalein als Indicator und mit den Boratmischungen 7,25—7,5—7,75—8,0—8,5—9,0 Borat + HCl als Vergleichsflüssigkeiten fanden wir das Meerwasser gleich

7,8 Borat + HCl; $p_{H^{\cdot}} = 8,87$,
die Korrektion: 8,63 — 8,87 = — 0,24.

Auf dieselbe Weise wie in dem oben angeführten Beispiel wurden alle 11 Proben Meerwasser mit ca. 35 ‰ Salz und 4 Proben mit ca. 20 ‰ untersucht. Einzelne der Proben wurden jedoch nicht mit sämtlichen Indicatoren untersucht. Die Mittelwerte[2]) der solchermaßen gefundenen Korrektionen waren die folgenden:

a) p-Nitrophenol (5 bis 8 Tropfen)[3]), Phosphatmischungen.

35 ‰ Salz: — 0,12
20 „ „ — 0,08

---

[1]) Siehe S. P. L. Sörensen, Ergänzung zu der Abhandlung: Enzymstudien. II. Diese Zeitschr. 22, 352, 1909.

[2]) In einzelnen Fällen, und zwar besonders in ein paar der für die Messung mittels Neutralrot bestimmten Proben hat während der elektrometrischen Messung die elektromotorische Kraft eine stete, wenn auch sehr langsame Steigerung gezeigt. In diesen Fällen wurde mit der letzten der ausgeführten Messungen gerechnet. Die aus dem Messungsergebnisse berechnete Korrektion wurde bei der oben erwähnten Berechnung des Mittelwertes nicht benutzt, in der Tabelle VI aber sind auch diese Versuchsergebnisse mit aufgenommen, und es ist aus der Tabelle ersichtlich, daß die Abweichung in keinem Falle sehr groß gewesen ist.

Übrigens möchten wir nur noch darauf aufmerksam machen, daß eine Betrachtung des Verlaufs der Citrat- und Boratkurven auf der Hauptkurventafel (Enz. II, S. 176) es leicht verständlich macht, daß weder die Citrat- noch die Boratmischungen sich besonders als Puffergemisch für den Bereich eignen, in denen das Neutralrot seinen besten Umschlag zeigt.

[3]) Betreffs der Stärke und Darstellung der Indicatorlösungen sei auf Enz. II, S. 241, 246 und 248, sowie auf die vorstehende Abhandlung S. 384 verwiesen.

β) **Neutralrot (10 Tropfen), Phosphatmischungen.**

35 ‰ Salz: + 0,10
20 „ „ + 0,05

γ) **α-Naphtholphthalein (8 Tropfen), Phosphatmischungen.**

35 ‰ Salz: — 0,16
20 „ „ — 0,11

δ) **α-Naphtholphthalein (8 Tropfen) Boratmischungen.**

35 ‰ Salz: — 0,22
20 „ „ — 0,17

ε) **Phenolphthalein (10 bis 15 Tropfen), Boratmischungen.**

35 ‰ Salz: — 0,21
20 „ „ — 0,16

Mittels dieser Korrektionen wurden die Tabellen I bis V nach dem in der Einleitung (S. 393) angegebenen Verfahren berechnet.

Tabelle I.
Phosphatmischungen; p-Nitrophenol.

Zusammensetzung der Phosphatmischung	Der Wasserstoffionenexponent p_H der Phosphatmischung		
	nicht korrigiert	nach Korrektion bezüglich des Salzfehlers	
		35 ‰ Salz (Korr. = — 0,12)	20 ‰ Salz (Korr. = — 0,08)
0,1 ccm sek. + 9,9 ccm prim.	4,94	4,82	4,86
0,2 „ „ + 9,8 „ „	5,20	5,08	5,12
0,3 „ „ + 9,7 „ „	5,36	5,24	5,28
0,4 „ „ + 9,6 „ „	5,48	5,36	5,40
0,5 „ „ + 9,5 „ „	5,59	5,47	5,51
0,7 „ „ + 9,3 „ „	5,75	5,63	5,67
1,0 „ „ + 9,0 „ „	5,91	5,79	5,83
1,25 „ „ + 8,75 „ „	6,01	5,89	5,93
1,5 „ „ + 8,5 „ „	6,10	5,98	6,02
2,0 „ „ + 8,0 „ „	6,24	6,12	6,16
2,5 „ „ + 7,5 „ „	6,37	6,25	6,29
3,0 „ „ + 7,0 „ „	6,47	6,35	6,39
3,5 „ „ + 6,5 „ „	6,57	6,45	6,49
4,0 „ „ + 6,0 „ „	6,65	6,53	6,57
4,5 „ „ + 5,5 „ „	6,73	6,61	6,65
5,0 „ „ + 5,0 „ „	6,81	6,69	6,73
5,5 „ „ + 4,5 „ „	6,90	6,78	6,82
6,0 „ „ + 4,0 „ „	6,98	6,86	6,90
6,5 „ „ + 3,5 „ „	7,07	6,95	6,99

Tabelle II.

Phosphatmischungen; Neutralrot.

Zusammensetzung der Phosphatmischung	Der Wasserstoffionenexponent p_H der Phosphatmischung		
	nicht korrigiert	nach Korrektion bezüglich des Salzfehlers	
		35‰ Salz (Korr. = + 0,10)	20‰ Salz (Korr. = + 0,05)
3,5 ccm sek. + 6,5 ccm prim.	6,57	6,67	6,62
4,0 „ „ + 6,0 „ „	6,65	6,75	6,70
4,5 „ „ + 5,5 „ „	6,73	6,83	6,78
5,0 „ „ + 5,0 „ „	6,81	6,91	6,86
5,5 „ „ + 4,5 „ „	6,90	7,00	6,95
6,0 „ „ + 4,0 „ „	6,98	7,08	7,03
6,5 „ „ + 3,5 „ „	7,07	7,17	7,12
7,0 „ „ + 3,0 „ „	7,17	7,27	7,22
7,5 „ „ + 2,5 „ „	7,26	7,36	7,31
7,75 „ „ + 2,25 „ „	7,32	7,42	7,37
8,0 „ „ + 2,0 „ „	7,38	7,48	7,43
8,25 „ „ + 1,75 „ „	7,45	7,55	7,50
8,5 „ „ + 1,5 „ „	7,53	7,63	7,58
8,75 „ „ + 1,25 „ „	7,62	7,72	7,67
9,0 „ „ + 1,0 „ „	7,73	7,83	7,78

Tabelle III.

Phosphatmischungen; α-Naphtholphthalein.

Zusammensetzung der Phosphatmischung	Der Wasserstoffionenexponent p_H der Phosphatmischung		
	nicht korrigiert	nach Korrektion bezüglich des Salzfehlers	
		35‰ Salz (Korr. = − 0,16)	20‰ Salz (Korr. = − 0,11)
7,5 ccm sek. + 2,5 ccm prim.	7,26	7,10	7,15
7,75 „ „ + 2,25 „ „	7,32	7,16	7,21
8,00 „ „ + 2,0 „ „	7,38	7,22	7,27
8,25 „ „ + 1,75 „ „	7,45	7,29	7,34
8,5 „ „ + 1,5 „ „	7,53	7,37	7,42
8,75 „ „ + 1,25 „ „	7,62	7,46	7,51
9,0 „ „ + 1,0 „ „	7,73	7,57	7,62
9,2 „ „ + 0,8 „ „	7,84	7,68	7,73
9,4 „ „ + 0,6 „ „	7,97	7,81	7,86
9,6 „ „ + 0,4 „ „	8,14	7,98	8,03
9,75 „ „ + 0,25 „ „	8,34	8,18	8,23

Tabelle IV.

Boratmischungen; α-Naphtholphthalein.

Zusammensetzung der Boratmischung	Der Wasserstoffionenexponent $p_{H^{\cdot}}$ der Boratmischung		
	nicht korrigiert	nach Korrektion bezüglich des Salzfehlers	
		35 ‰ Salz (Korr. = − 0,22)	20 ‰ Salz (Korr. = − 0,17)
5,25 ccm Borat + 4,75 ccm HCl	7,62	7,40	7,45
5,3 „ „ + 4,7 „ „	7,71	7,49	7,54
5,4 „ „ + 4,6 „ „	7,84	7,62	7,67
5,5 „ „ + 4,5 „ „	7,94	7,72	7,77
5,6 „ „ + 4,4 „ „	8,03	7,81	7,86
5,8 „ „ + 4,2 „ „	8,17	7,95	8,00
6,0 „ „ + 4,0 „ „	8,29	8,07	8,12
6,25 „ „ + 3,75 „ „	8,41	8,19	8,24
6,5 „ „ + 3,5 „ „	8,51	8,29	8,34
6,75 „ „ + 3,25 „ „	8,60	8,38	8,43
7,0 „ „ + 3,0 „ „	8,68	8,46	8,51

Tabelle V.

Boratmischungen; Phenolphthalein.

Zusammensetzung der Boratmischung	Der Wasserstoffionenexponent $p_{H^{\cdot}}$ der Boratmischung		
	nicht korrigiert	nach Korrektion bezüglich des Salzfehlers	
		35 ‰ Salz (Korr. = − 0,21)	20 ‰ Salz (Korr. = − 0,16)
6,0 ccm Borat + 4,0 ccm HCl	8,29	8,08	8,13
6,25 „ „ + 3,75 „ „	8,41	8,20	8,25
6,5 „ „ + 3,5 „ „	8,51	8,30	8,35
6,75 „ „ + 3,25 „ „	8,60	8,39	8,44
7,0 „ „ + 3,0 „ „	8,68	8,47	8,52
7,25 „ „ + 2,75 „ „	8,74	8,53	8,58
7,5 „ „ + 2,5 „ „	8,80	8,59	8,64
8,0 „ „ + 2,0 „ „	8,91	8,70	8,75
8,5 „ „ + 1,5 „ „	9,01	8,80	8,85
9,0 „ „ + 1,0 „ „	9,09	8,88	8,93
9,5 „ „ + 0,5 „ „	9,17	8,96	9,01
10,0 „ „	9,24	9,03	9,08

Die Benutzung der in den Tabellen I bis V gegebenen, um den Salzfehler der Indicatoren korrigierten Werte der Wasserstoffionenexponenten der Vergleichsflüssigkeiten bietet keinerlei Schwierigkeiten dar und ist übrigens in der Einleitung erwähnt (S. 393). Hier möchten wir nur die Aufmerksamkeit auf die in der Tabelle VI gegebene Zusammenstellung der sämtlichen

Meßresultate lenken, auf denen die Korrektionstabellen fußen. Die Tabelle ist ohne weitere Erklärung verständlich; vergleicht man die in dem dritt- und dem zweitletzten Stab aufgeführten Werte von $p_{H^{\cdot}}$, so findet man eine schöne Übereinstimmung zwischen den elektrometrischen und den colorimetrischen Messungen (bei diesen letzteren sind natürlich die um den Salzfehler korrigierten Werte des Wasserstoffionenexponenten benutzt).

Tabelle VI.

Die untersuchten Wasserproben				Die von Kohlensäure befreiten Wasserproben gaben auf Zusatz passender Puffermischungen		
Nr.	wurden entnommen		hatten einen Salzgehalt	bei elektrometrischer Messung	bei colorimetrischer Messung	
	Länge	Breite	‰	$p_{H^{\cdot}}$	$p_{H^{\cdot}}$	Bemerkung
39	10° 47′ O.	54° 44′ N.	20,32	5,84	5,83	1,0 sek.; Nitrophenol
				7,02	7,03	6,0 „ Neutralrot
				7,68	7,67	9,1 „ Naphtholphthalein
				7,68	7,67	5,4 Borat; „
				8,68	8,70	7,75 „ Phenolphthalein
41	10° 59′ O.	54° 38′ N.	20,84	5,91	5,91	1,2 sek.; Nitrophenol
				7,13	7,14	6,6 „ Neutralrot
				7,75	7,76	9,25 „ Naphtholphthalein
				7,75	7,77	5,5 Borat; „
				8,69	8,68	7,7 „ Phenolphthalein
42	11° 01′ O.	54° 37′ N.	20,57	5,86	5,87	1,1 sek.; Nitrophenol
				7,62	7,65	9,05 „ Naphtholphthalein
				7,62	7,61	5,35 Borat; „
43	11° 02′ O.	54° 36′ N.	19,98	5,87	5,91	1,2 sek.; Nitrophenol
				6,98	6,98	5,7 „ Neutralrot
				7,64	7,62	9,0 „ Naphtholphthalein
				7,64	7,67	5,4 Borat; „
				8,68	8,67	7,65 „ Phenolphthalein
59	12° 32′ W.	62° 32′ N.	35,23	6,25	6,20	2,3 sek.; Nitrophenol
				7,60	7,55	8,25 „ Neutralrot
				7,60	7,62	9,1 „ Naphtholphthalein
				7,60	7,62	5,4 Borat; „
				8,66	8,66	7,8 „ Phenolphthalein
76	0° 00′	59° 15′ N.	35,14	5,91	5,91	1,3 sek.; Nitrophenol
				7,18	7,17	6,5 „ Neutralrot
				7,79	7,81	9,4 „ Naphtholphthalein
				7,79	7,81	5,6 Borat; „
				8,65	8,66	7,8 „ Phenolphthalein

Tabelle VI (Fortsetzung).

Nr.	Die untersuchten Wasserproben wurden entnommen		hatten einen Salzgehalt	Die von Kohlensäure befreiten Wasserproben gaben auf Zusatz passender Puffermischungen bei elektrometrischer Messung	bei colorimetrischer Messung	
	Länge	Breite	°/₀	p_H.	p_H.	Bemerkung
78	11°45′ W.	58°50′N.	35,37	5,94	5,98	1,5 sek.; Nitrophenol
				7,12	7,14	6,35 „ Neutralrot
				7,80	7,78	9,35 „ Naphtholphthalein
				7,80	7,77	5,55 Borat; „
				8,64	8,63	7,7 „ Phenolphthalein
81	26°30′ W.	54°55′N.	35,21	5,84	5,79	1,0 sek.; Nitrophenol
				7,20	7,15	6,4 „ Neutralrot
				7,79	7,81	9,4 „ Naphtholphthalein
				7,79	7,81	5,6 Borat; „
				8,66	8,63	7,7 „ Phenolphthalein
86	44°15′ W.	45°30′N.	35,90	6,33	6,33	2,9 sek.; Nitrophenol
				7,13	7,17	6,5 „ Neutralrot
				7,76	7,74	9,3 „ Naphtholphthalein
				7,76	7,77	5,55 Borat; „
				8,65	8,63	7,7 „ Phenolphthalein
93	60°01′ W.	42°12′N.	35,95	5,96	5,96	1,45 sek.; Nitrophenol
				7,10	7,11	6,15 „ Neutralrot
				7,75	7,74	9,3 „ Naphtholphthalein
				7,75	7,77	5,55 Borat; „
				8,63	8,66	7,8 „ Phenolphthalein
96	66°07′ W.	40°57′N.	33,12	5,89	5,89	1,25 sek. Nitrophenol
				7,13	7,12	6,2 „ Neutralrot
				7,74	7,74	9,3 „ Naphtholphthalein
				7,74	7,72	5,5 Borat; „
				8,64	8,66	7,8 „ Phenolphthalein
113a	9°45′ W.	39°35′N.	35,91	7,63	7,60	8,4 sek. Neutralrot
				7,63	7,62	9,1 „ Naphtholphthalein
				7,63	7,62	5,4 Borat; „
				8,75	8,75	8,25 „ Phenolphthalein
114a	7°55′ W.	44°21′N.	35,63	5,90	5,91	1,3 sek.; Nitrophenol
				7,66	7,65	8,55 „ Neutralrot
				7,66	7,68	9,2 „ Naphtholphthalein
				7,66	7,67	5,45 Borat; „
				8,64	8,63	7,7 „ Phenolphthalein
117a	5°22′ W.	48°06′N.	35,35	5,84	5,89	1,25 sek.; Nitrophenol
				7,45	7,44	8,7 „ Naphtholphthalein
				7,97	7,95	5,8 Borat; „
				8,64	8,63	7,7 „ Phenolphthalein
119a	3°35′ O.	52°35′N.	35,15	7,59	7,54	8,2 sek.; Neutralrot
				8,63	8,63	7,7 Borat; Phenolphthalein

Schon in der Einleitung ist darauf aufmerksam gemacht worden, daß es kaum möglich ist, eine wirkliche, somit kohlensäurehaltige Probe von Meerwasser nach der üblichen elektrometrischen Methode genau zu messen, weil während der Messung immerfort Kohlensäure entweicht, so daß die Wasserstoffionenkonzentration immer kleiner wird. Um diese Tatsache etwas näher zu beleuchten, werden unten ein paar diesbezügliche Versuche angeführt.

α) Meerwasser Nr. 59 (35,23‰ Salz).

Das Wasser wurde direkt aus der Flasche ins Elektrodengefäß gefüllt, das Wasserstoffdurchleiten fing um 9^{50} Uhr an.

10^{30}	wurde	gefunden	$\pi = 0{,}7971$,	$p_{H^\cdot} = 7{,}96$
11	„	„	$\pi = 0{,}8080$,	$p_{H^\cdot} = 8{,}15$
12	„	„	$\pi = 0{,}8176$,	$p_{H^\cdot} = 8{,}32$
1	„	„	$\pi = 0{,}8234$,	$p_{H^\cdot} = 8{,}42$
2	„	„	$\pi = 0{,}8276$,	$p_{H^\cdot} = 8{,}49$
3	„	„	$\pi = 0{,}8313$,	$p_{H^\cdot} = 8{,}55$
7	„	„	$\pi = 0{,}8388$,	$p_{H^\cdot} = 8{,}68$

Bei der colorimetrischen Messung des im Elektrodengefäß befindlichen, elektrometrisch gemessenen Wassers mit Phenolphthalein als Indicator und Boratmischungen als Vergleichsflüssigkeiten fanden wir das Meerwasser

gleich 7,9 Borat + HCl; $p_{H^\cdot} = 8{,}68$ (Tab. V, S. 400).

β) Meerwasser Nr. 113 (35,91‰ Salz).

Die Wasserstoffdurchleitung fing um 10^{08} Uhr an.

10^{30}	wurde	gefunden	$\pi = 0{,}7876$,	$p_{H^\cdot} = 7{,}80$
11	„	„	$\pi = 0{,}8026$,	$p_{H^\cdot} = 8{,}06$
12	„	„	$\pi = 0{,}8138$,	$p_{H^\cdot} = 8{,}25$
1^{40}	„	„	$\pi = 0{,}8216$,	$p_{H^\cdot} = 8{,}39$

Das elektrometrisch gemessene Wasser wurde colorimetrisch mit Phenolphthalein als Indicator und mit Boratmischungen als Vergleichsflüssigkeiten gemessen. Es wurde gefunden

gleich 6,8 Borat + HCl; $p_{H^\cdot} = 8{,}41$ (Tab. V, S. 400).

Schließlich mögen eine Reihe colorimetrischer Messungen Erwähnung finden, die wir an Meerwasserproben, die wir direkt aus den Aufbewahrungsflaschen herauspipettierten, ausgeführt haben. Wir glauben nicht, daß diese Messungen, die in den Tabellen VII bis X zusammengestellt sind, uns über die Wasserstoffionenkonzentration der betreffenden Wasserproben in dem Augenblicke, wo sie aus dem Meere herausgeholt wurden, Aufklärung geben. Wir führen diese Messungen nur deshalb an,

Tabelle VII.
Meerwasserproben der Reihe I (S. 394).

Die untersuchten Wasserproben						Colorimetrische Messung	
Nr.	wurden entnommen			hatten einen Salzgehalt			
	Länge	Breite	Tiefe m	‰	p_H	Bemerkung	
1	12° 28′ O.	56° 12′ N.	21	31,78	6,85	5,9 sek.;	Nitrophenol
					6,80	4,4 „	Neutralrot
2	12° 27′ „	56° 13′ „	0	20,34	6,61	4,25 „	Nitrophenol
					6,57	3,25 „	Neutralrot
3	12° 23′ „	56° 18′ „	23	33,45	7,78	8,9 „	„
4	12° 21′ „	56° 20′ „	0	20,03	6,78	4,5 „	„
7	11° 50′ „	57° 01′ „	0	25,08	7,04	6,0 „	„
10	11° 41′ „	57° 20′ „	37	34,00	7,29	7,1 „	„
14	10° 59′ „	57° 58′ „	ca. 90	34,96	7,12	6,2 „	„
18	10° 45′ „	57° 53′ „	0	31,35	7,16	6,5 „	„
19	10° 44′ „	57° 10′ „	16	28,87	6,69	4,9 „	Nitrophenol
					6,67	3,6 „	Neutralrot
20	10° 47′ „	57° 06′ „	0	28,06	6,81	4,5 „	„
25	10° 58′ „	56° 28′ „	16	29,32	7,11	6,25 „	„
28	10° 59′ „	56° 00′ „	0	25,39	7,12	6,4 „	„
31	10° 52′ „	55° 39′ „	0	22,01	6,91	5,25 „	„
34	11° 04′ „	55° 17′ „	0	22,16	7,12	6,5 „	„
35	11° 00′ „	54° 59′ „	0	21,41	7,90	9,45 „	Naphtholphthalein
					7,89	5,65 Borat;	„
37	10° 50′ „	54° 51′ „	0	20,39	7,03	6,0 sek.;	Neutralrot
39	10° 47′ „	54° 44′ „	0	20,32	6,91	5,3 „	„
40	10° 46′ „	54° 44′ „	0	21,04	7,37	7,75 „	„
41	10° 59′ „	54° 38′ „	21	20,84	7,16	6,7 „	„
42	11° 01′ „	54° 37′ „	0	20,57	7,65	9,05 „	Naphtholphthalein
43	11° 02′ „	54° 36′ „	0	19,98	6,83	4,8 „	Neutralrot

weil sie uns Gelegenheit geben, darzutun, wie leicht die Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers sich während der Aufbewahrung verändert, und wie notwendig es daher ist, daß die Messung an Bord so bald wie möglich, nachdem die Probe entnommen ist, ausgeführt wird. Da außerdem viele dieser Proben eine Wasserstoffionenkonzentration zeigten, die sich mit mehr als einem Indicator messen ließ, haben wir an einer Reihe der Proben Messungen mittels zweier Indicatoren ausgeführt und dadurch ein Maß der Genauigkeit bekommen, auf das man bei der praktischen Anwendung des Verfahrens rechnen darf. Aus den Tabellen VII bis X ersieht man, daß die Übereinstimmung zwischen den Messungen mittels zwei Indicatoren sogar sehr gut ist. Die größte Differenz ist 0,07 im Werte des Wasserstoffionenexponenten; gewöhnlich ist sie noch weit kleiner, und zwar trotzdem alle diese Messungen aus den Grenzgebieten

herrühren, wo die Umschlagszonen der Indicatoren übereinander greifen, und wo der Umschlag demzufolge nicht so scharf ist wie in der Mitte der Umschlagszone des Indicators.[1])

Tabelle VIII.

Meerwasserproben der Reihe II (S. 395). (Oberflächenwasser.)

Die untersuchten Wasserproben				Colorimetrische Messung	
Nr.	wurden entnommen		hatten einen Salzgehalt ‰	p_H.	Bemerkung
	Länge	Breite			
51	3° 44' W.	59° 49' N.	35,35	7,78	9,35 sek.; Naphtholphthalein
				7,81	5,6 Borat; „
53	5° 07' „	60° 54' „	35,23	8,01	5,9 „ „
54	6° 22' „	61° 51' „	35,10	7,46	7,9 sek.; Neutralrot
				7,42	8,65 „ Naphtholphthalein
55	8° 37' „	62° 10' „	35,26	6,96	5,25 „ Neutralrot
57	10° 37' „	62° 22' „	35,25	6,65	4,75 „ Nitrophenol
				6,69	3,6 „ Neutralrot
58	11° 31' „	62° 28' „	35,23	6,95	5,2 „ „
59	12° 32' „	62° 32' „	35,23	7,42	8,65 „ Naphtholphthalein
60	13° 43' „	62° 40' „	35,25	6,81	5,7 „ Nitrophenol
				6,83	4,5 „ Neutralrot
61	14° 52' „	62° 47' „	35,23	7,17	6,5 „ „
63	18° 50' „	62° 48' „	35,21	7,17	6,5 „ „
65	16° 12' „	62° 04' „	35,25	7,13	6,3 „ „
66	14° 21' „	61° 36' „	35,25	7,12	6,2 „ „
67	11° 11' „	60° 48' „	35,25	7,63	8,5 „ „
				7,60	9,05 „ Naphtholphthalein
68	10° 03' „	60° 28' „	35,28	6,74	5,25 „ Nitrophenol
				6,69	3,6 „ Neutralrot
69	8° 56' „	60° 10' „	35,25	6,83	4,5 „ „
70	7° 56' „	59° 53' „	35,32	7,67	8,6 „ „
				7,62	9,1 „ Naphtholphthalein
71	6° 48' „	59° 36' „	35,32	7,37	8,5 „ „
72	6° 44' „	59° 20' „	35,35	6,82	5,75 „ Nitrophenol
				6,78	4,2 „ Neutralrot
73	4° 53' „	59° 07' „	35,10	6,91	5,0 „ „

[1]) Beim Durchgang der Tabellen VII bis X wird man bemerken, daß bei sämtlichen Messungen, die sowohl mit Neutralrot als auch mit Naphtholphthalein ausgeführt wurden, der mit dem erstgenannten Indicator gefundene Wert des p_H. der größte ist. Der Unterschied ist, wie schon oben bemerkt, nur gering, da er aber bei sämtlichen Versuchen in derselben Richtung geht, so sind wir geneigt zu glauben, daß er nicht ausschließlich in zufälligen Versuchsfehlern seinen Grund hat, sondern daß er aus einer methodischen Fehlerquelle stammt. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß diese Fehlerquelle, die jedenfalls von ganz untergeordneter Bedeutung ist, in dem Umstande zu suchen ist, daß der Salzfehler kaum ein absolut konstanter ist, sondern mit der Wasserstoffionenkonzentration ein wenig variiert (vgl. S. 392).

Tabelle IX.

Meerwasserproben der Reihe III (S. 395).
(Oberflächenwasser.)

Die untersuchten Wasserproben				Colorimetrische Messung	
Nr.	wurden entnommen		hatten einen Salzgehalt ‰	p_H.	Bemerkung
	Länge	Breite			
74	5° 20′ O.	58° 15′ N.	33,57	7,00	5,5 sek.; Neutralrot
75	2° 25′ „	58° 48′ „	35,16	7,55	8,25 „ „
76	0° 00′ „	59° 15′ „	35,14	7,81	9,4 „ Naphtholphthalein
78	11° 45′ W.	58° 50′ „	35,37	7,08	6,0 „ Neutralrot
79	17° 00′ „	57° 47′ „	35,30	7,48	8,0 „ „
				7,46	8,75 „ Naphtholphthalein
81	26° 30′ „	54° 55′ „	35,21	7,08	6,0 „ Neutralrot
82	31° 00′ „	52° 50′ „	35,07	7,49	8,05 „ „
				7,46	8,75 „ Naphtholphthalein
83	34° 20′ „	51° 01′ „	35,46	7,17	6,5 „ Neutralrot
85	41° 00′ „	47° 00′ „	35,66	6,84	5,9 „ Nitrophenol
				6,85	4,6 „ Neutralrot
86	44° 15′ „	45° 30′ „	35,90	7,74	9,3 „ Naphtholphthalein
87	47° 40′ „	44° 30′ „	33,30	7,30	7,2 „ Neutralrot
				7,26	8,15 „ Naphtholphthalein
89	51° 59′ „	43° 45′ „	33,13	7,56	8,3 „ Neutralrot
				7,55	8,95 „ Naphtholphthalein
91	55° 54′ „	43° 00′ „	32,84	6,96	5,35 „ Neutralrot
93	60° 01′ „	42° 12′ „	35,95	7,68	9,2 „ Naphtholphthalein
94	62° 08′ „	41° 52′ „	33,80	6,75	5,3 „ Nitrophenol
				6,78	4,2 „ Neutralrot
95	64° 00′ „	41° 20′ „	33,96	7,81	9,4 „ Naphtholphthalein
96	66° 07′ „	40° 57′ „	33,12	7,34	7,4 „ Neutralrot

Tabelle X.

Meerwasserproben der Reihe IV (S. 395).
(Oberflächenwasser.)

Die untersuchten Wasserproben				Colorimetrische Messung	
Nr.	wurden entnommen		hatten einen Salzgehalt ‰	p_H.	Bemerkung
	Länge	Breite			
101a	2° 30′ O.	36° 54′ N.	36,69	7,81	9,4 sek.; Naphtholphthalein
101b	„	„	„	7,98	9,6 „ „
102a	1° 17′ „	37° 02′ „	37,30	7,81	9,4 „ „
102b	„	„	„	7,85	9,45 „ „
103a	0° 37′ W.	36° 27′ „	36,91	7,93	9,55 „ „
				7,95	5,8 Borat; „
103b	„	„	„	7,93	9,55 sek.; „
				7,95	5,8 Borat; „

Tabelle X (Fortsetzung).

Die untersuchten Wasserproben				Colorimetrische Messung	
Nr.	wurden entnommen		hatten einen Salzgehalt %	p_H.	Bemerkung
	Länge	Breite			
104a	1° 02′ „	35° 55′ „	36,66	7,69	8,65 sek.; Neutralrot
				7,62	9,1 „ Naphtholphthalein
				7,62	5,4 Borat; „
104b	„	„	„	7,89	9,5 sek.; „
				7,88	5,7 Borat; „
105a	1° 54′ „	36° 30′ „	37,60	7,73	8,75 sek.; Neutralrot
				7,67	9,18 „ Naphtholphthalein
				7,69	5,48 Borat; „
105b	„	„	„	7,71	8,7 sek.; Neutralrot
				7,67	9,18 „ Naphtholphthalein
106a	4° 24′ „	36° 36′ „	36,86	7,89	9,5 „ „
106b	„	„	„	8,36	6,7 Borat; „
(weiße Flasche)				8,32	6,55 „ Phenolphthalein
107a	4° 24′ „	36° 02′ „	36,45	7,63	8,5 sek; Neutralrot
				7,62	9,1 „ Naphtholphthalein
107b	„	„	„	7,89	9,5 „ „
108a	5° 15′ „	36° 02′ „	36,60	7,60	8,4 „ Neutralrot
				7,55	8,95 „ Naphtholphthalein
108b	„	„	„	7,65	8,55 „ Neutralrot
				7,63	9,12 „ Naphtholphthalein
110a (weiße Flasche)	6° 52′ „	36° 16′ „	36,43	8,64	7,75 Borat; Phenolphthalein
110b	„	„	„	7,67	9,18 sek.; Naphtholphthalein
				7,67	5,45 Borat; „
112a	9° 44′ „	36° 45′ „	36,30	8,29	6,5 „ „
113a	9° 45′ „	39° 35′ „	35,91	7,42	8,65 sek.; „
114a	7° 55′ „	44° 21′ „	35,63	7,60	8,4 „ Neutralrot
115a	7° 03′ „	45° 37′ „	35,61	7,42	7,75 „ „
116a	5° 48′ „	47° 01′ „	35,60	7,48	8 „ „
117a	5° 22′ „	48° 06′ „	35,35	7,65	9,15 „ Naphtholphthalein
118a	4° 05′ „	49° 00′ „	35,43	8,38	6,75 Borat; „
(weiße Flasche)				8,37	6,7 „ Phenolphthalein
119a	3° 35′ O.	52° 35′ „	35,15	7,71	9,25 sek.; Naphtholphthalein
120a	6° 00′ „	53° 45′ „	33,21	8,25	6,4 Borat; „
(weiße Flasche)				8,26	6,4 „ Phenolphthalein

Eine etwas genauere Betrachtung der in diesen Tabellen gesammelten Messungsergebnisse wird zeigen, daß die Meerwasserproben der Reihe I durchgehends die sauersten sind, die Reihe II und namentlich die Reihe III sind im großen und ganzen ein wenig alkalischer, und die Proben der Reihe IV durchgehends weit alkalischer als die ersten drei Reihen. Das

rührt gewiß nicht davon her, daß die betreffenden Wasserproben bei der Entnahme alkalisch gewesen sind, sondern von der Aufbewahrung in den Glasflaschen. Es ist schon früher (S. 395) erwähnt, daß die ersten drei Reihen von Proben in gewöhnlichen grünen Bouteillen vorlagen, wogegen die Proben der Reihe IV in Sodawasserflaschen von $^1/_2$ l Größe aufbewahrt wurden; wahrscheinlich haben diese letzteren in besonders hohem Maße alkalische Bestandteile zum Meerwasser abgegeben. In diesem Zusammenhang ist es von besonderem Interesse, daß unter diesen Sodawasserflaschen aus bläulichem Glase sich 4 Flaschen aus beinahe weißem Glase befanden. Der Unterschied der Glasfarbe war sehr auffällig, und es handelt sich bei diesen 4 Flaschen offenbar um eine Glasart, die ganz ausgeprägt alkaliabgebend ist, denn die 4 entsprechenden Meerwasserproben (Nr. 106b, Nr. 110a, Nr. 118a und Nr. 120a, Tabelle X) sind sämtlich stark alkalisch. Besonders deutlich zeigt sich der Einfluß der Glassorte, wenn 106a mit 106b oder 110a mit 110b verglichen werden, indem a und b eigentlich ein und dieselbe Wasserprobe ist, nur in verschiedenen Flaschen aufbewahrt.

Tabelle XI.

Nr. der untersuchten Wasserprobe	Colorimetrische Messung			
	gleich beim Öffnen der Flasche		nach 1 bis 2monatigem Stehenlassen der halbvollen, verschlossenen Flasche	
	p_H.	Bemerkung	p_H.	Bemerkung
39	6,91	5,3 sek.; Neutralrot	7,62	8,6 sek.; Neutralrot
			7,58	8,9 „ Naphtholphthalein
41	7,16	6,7 „ „	7,94	9,5 „ „
			7,93	5,7 Borat; „
42	7,65	9,05 „ Naphtholphthalein	7,94	9,5 sek.; „
			7,90	5,65 Borat; „

Schon eingangs ist die Aufmerksamkeit auf noch eine Fehlerquelle gelenkt worden, die von Bedeutung werden kann, wenn das Wasser während längerer Zeit aufbewahrt wird, nämlich die Abgabe bzw. Aufnahme von Kohlensäure bei Berührung mit der Luft in der Flasche, sobald die letztere nicht ganz voll ist. Es zeigt sich denn auch, daß, wenn erst etwas aus einer Flasche genommen ist, der Restinhalt

bald seine Wasserstoffionenkonzentration in sehr wesentlichem Maße wegen der Kohlensäureabgabe ändern wird. Um einen Begriff von den in Rede stehenden Änderungen zu geben, haben wir in der Tabelle XI einige Messungen zusammengestellt, die teils sofort nach dem Öffnen der Flasche, teils nachdem sie in halbvollem aber dicht verschlossenem Zustande 1 bis 2 Monate gestanden hatte, ausgeführt wurden; man findet eine sehr beträchtliche Änderung der Wasserstoffionenkonzentration in allen Fällen.

Eine Durchsicht sämtlicher in den Tabellen 7 bis 10 gegebenen Messungen zeigt, daß die gefundenen Wasserstoffionenexponenten zwischen den Grenzpunkten 6,6 (Nr. 2, Tabelle VII) und 8,6 (Nr. 110a, Tabelle X) liegen, was anders gesagt bedeutet, daß die Wasserstoffionenkonzentration im ersteren Falle ($10^{-6,6}$) 100mal größer als im letzteren ($10^{-8,6}$) ist. Es ist möglich, wohl sogar wahrscheinlich, daß die Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers nicht so stark variiert, und daß der Grund der besonders in Reihe IV gefundenen ausgeprägt alkalischen Reaktion, ausschließlich in der Alkalinität des Glases zu suchen ist. Sollte diese Annahme sich bewahrheiten, dann ist die Möglichkeit gegeben, daß man bei den colorimetrischen Messungen der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers die Boratmischungen nicht nötig hat, sondern sich mit den Phosphatmischungen begnügen kann, mittels deren man laut Tabelle III Wasserstoffionenexponenten bis zu 8, ja noch ein wenig darüber zu messen imstande ist. Hierüber läßt sich indessen noch nichts sagen — es darf nicht vergessen werden, daß man in betreff dieser Frage vorläufig ganz unwissend ist —; wir haben es nur für richtig gehalten, auf alle Fälle die Boratmischungen in unsere Untersuchungen mit hineinzuziehen. Andererseits ist es fraglich, inwieweit die Phosphatmischungen und der Indicator *p*-Nitrophenol die saure Seite so weit zu erreichen vermögen, daß auch das kohlensäurereichste Meerwasser dadurch gemessen werden kann. Wir glauben, daß diese Frage höchstwahrscheinlich bejahend zu beantworten sein wird, die endgültige Antwort kann aber selbstverständlich erst durch Messungen an Bord gegeben werden.

Dasselbe gilt von einer Reihe von Verhältnissen betreffend die praktische Anwendung der Methode an Bord, z. B. der

Temperaturfrage. Die Normaltemperatur der Methode ist 18° C, und Voraussetzung einer genauen Messung ist es deshalb, daß das Meerwasser vor der Messung so schnell wie möglich und ohne Kohlensäureverlust auf diese Temperatur erwärmt wird.

Auf diese Fragen hoffen wir zurückzukehren, wenn die Methode in der Praxis geprüft worden ist. Ebenfalls wäre es vielleicht nicht unangebracht, den Salzfehler auch für einen kleineren Salzgehalt des Meerwassers als 20 °/₀₀ zu bestimmen; derartige Proben haben uns indessen nicht zur Verfügung gestanden.[1])

---

[1]) Um die Frage über die Größe des Salzfehlers bei sehr geringem Salzgehalt zu erläutern, haben wir nur einen einzelnen Versuch gemacht, für den wir das Wasser Nr. 39 (20,32 °/₀₀ Salz) benutzten, indem wir es mit seinem dreifachen Volum destillierten Wassers verdünnten, wodurch der Salzgehalt auf ungefähr 5 °/₀₀ reduziert wurde. Dieses verdünnte Meerwasser wurde von Kohlensäure wie üblich befreit und die Wasserstoffionenkonzentration mittels der gewöhnlichen Puffer festgelegt. Die Messungsergebnisse waren die folgenden:

Elektrometrische Messung $p_{H^\cdot}$	Colorimetrische Messung			Korrektion
	$p_{H^\cdot}$	Vergleichsflüssigkeiten	Indicator	
6,15	6,17	Phosphatmischungen	Nitrophenol	— 0,02
7,16	7,12	Phosphatmischungen	Neutralrot	— 0,04
7,84	7,76	Phosphatmischungen	Naphtholphthalein	+ 0,08
7,84	7,82	Boratmischungen	„	+ 0,02
8,80	8,82	Boratmischungen	Phenolphthalein	— 0,02

Man ersieht, daß der Salzfehler der vier Messungen ganz innerhalb der Fehlergrenze der Versuche liegt; nur in einem Falle, nämlich bei der Messung mit Phosphatmischungen und Naphtholphthalein, ist eine Korrektion bezüglich des Salzfehlers sicher anzubringen. Diese Korrektion ist hier positiv, während die entsprechende Korrektion beim Meerwasser von 20 °/₀₀ negativ ist. Dieses ist indessen leicht verständlich, wenn man sich erinnert, daß beim Naphtholphthalein die Korrektion betreffend die Phosphat- und Boratmischungen von verschiedener Größe ist. Die Differenz dieser zwei Korrektionen beträgt sowohl für 35 °/₀₀ als auch für 20 °/₀₀ Salzgehalt 0,06 (siehe S. 398), und man sieht, daß die Differenz hier auch ganz derselben Größe ist; der Nullpunkt der Korrektion liegt daher für Naphtholphthalein und Phosphatmischungen bei einem Salzgehalt, der etwas größer als 5 °/₀₀ ist.

Einen einzelnen Umstand, der für die praktische Brauchbarkeit der Methode an Bord von Belang ist, müssen wir noch erwähnen. Wir setzen voraus, daß es gilt, im Laufe eines Tages so viele Messungen als möglich vorzunehmen. Man fängt dann am bequemsten damit an, alle Vergleichsflüssigkeiten abzumessen und zu färben; die Messung jeder einzelnen Probe Meerwasser nimmt dann nur ein paar Minuten in Anspruch. Bedingung, daß dieses Verfahren befolgt werden kann, ist indessen, daß die Farbstärke und Farbnuance der Vergleichsflüssigkeiten beim Stehenlassen während der Zeit, über die die Messungen sich erstrecken, sich nicht verändern. Bei unseren diesbezüglichen Versuchen haben wir gefunden, daß die mit Nitrophenol, Neutralrot und Phenolphthalein gefärbten Vergleichsflüssigkeiten sich gewöhnlich einen ganzen Tag unverändert hielten, während die mit Naphtholphthalein zubereiteten Flüssigkeiten beim Stehenlassen bisweilen etwas an Farbstärke einbüßten; es handelte sich aber immer nur um ganz unwesentliche Änderungen.

Es folgt von selbst, daß man während der im Laufe eines Tages ausgeführten Messungen die berührte Fehlerquelle nicht vernachlässigen darf, sondern daß man bei Abmessung und Färbung einer oder einiger passender Mischungen ab und zu kontrollieren muß, ob die Farbstärke oder Nuance der verschiedenen Vergleichsflüssigkeiten sich unverändert gehalten habe. Im Falle, daß eine unverkennbare Farbenänderung eingetreten ist, müssen neue Vergleichsflüssigkeiten abgemessen und gefärbt werden, und wenn es sich um sehr genaue Messungen handelt, dann muß man Sorge tragen, immer nur einigermaßen frisch zubereitete Flüssigkeiten zu benutzen. Sollen die Vergleichsflüssigkeiten mehrere Stunden Dienste leisten, so ist es zu empfehlen, besonders in betreff der am meisten alkalischen Mischungen, die Reagensgläser mit Korken zu verschließen, um die Kohlensäure der Luft fern zu halten.

Nachschrift.

In einem der letzten Hefte dieser Zeitschrift[1]) haben die Herren L. Michaelis und P. Rona eine Abhandlung mit dem Titel: „Der Einfluß der Neutralsalze auf die Indicatoren" ver-

[1]) Diese Zeitschr. 23, 61, 1909.

öffentlicht. Das Hauptergebnis dieser Arbeit ist folgendes[1]): „Methylviolett wird nach Salzzusatz scheinbar nach der sauren, Kongorot nach der alkalischen, Tropäolin, Methylorange, Alizarinrot nach der sauren, Rosolsäure, Trinitrobenzol nach der alkalischen, Phenolphthalein, Paranitrophenol nach der sauren Seite verschoben."

Die Verfasser machen nicht darauf aufmerksam, daß diese Angaben in mehreren Punkten im Gegensatz zu den im hiesigen Laboratorium gewonnenen Resultaten[2]) stehen — so z. B. haben wir gefunden, daß p-Nitrophenol und Phenolphthalein einer salzhaltigen Lösung eine zu hohe Alkalinität beimessen — und das ist, warum wir es für notwendig halten, diese Sache etwas näher zu besprechen.

Michaelis und Rona gehen davon aus, daß die Wasserstoffionenkonzentration einer Phosphatmischung durch Zugabe eines Neutralsalzes, z. B. KCl, nicht geändert wird. Da sie nun finden, daß eine angemessene Phosphatmischung nach Zusatz von reichlichem KCl mit dem Indicator p-Nitrophenol einen helleren Farbton gibt, als es bei derselben, aber kaliumchloridfreien Mischung unter sonst gleichen Umständen der Fall ist, so schließen sie, daß der Indicator p-Nitrophenol durch Salz dermaßen beeinflußt wird, daß er die Reaktion der betreffenden Lösung zu sauer anzeigt.

Zum Vergleich möge ein ganz ähnlicher, hier im Laboratorium ausgeführter, in der obengenannten Abhandlung S. P. L. Sörensens publizierter Versuch angeführt sein. Benutzt wurde die Phosphatmischung: „6,5 sek. + 3,5 prim.", die den Wasserstoffionenexponenten $p_{H^\cdot} = 7{,}06$ hat. Nach Zusatz von so viel Natriumchlorid, daß die Lösung in bezug auf diesen Stoff 0,5-normal wurde, maßen wir die Wasserstoffionenkonzentration sowohl elektrometrisch (gefunden $p_{H^\cdot} = 6{,}66$) als auch colorimetrisch mit p-Nitrophenol als Indicator (gefunden $p_{H^\cdot} = 6{,}80$). Es ist einleuchtend, daß, wenn man mit Michaelis und Rona voraussetzt, die Zugabe von Salz die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung nicht ändert und demzufolge für die kochsalzhaltige Phosphatlösung auch mit $p_{H^\cdot} = 7{,}06$ rechnet, dann die colorimetrische Messung eine zu große Acidität, d. h. ein zu

[1]) l. c., S. 65 unten.

[2]) S. P. L. Sörensen, diese Zeitschr. 21, 208, 1909.

niedriges $p_{H^{\cdot}}$ (= 6,80) anzeigen wird; rechnet man aber, wie wir es tun, für die kochsalzhaltige Phosphatlösung mit der elektrometrisch gefundenen Wasserstoffionenkonzentration ($p_{H^{\cdot}}$ = 6,66), dann zeigt die colorimetrische Messung eine zu geringe Acidität, ein zu hohes $p_{H^{\cdot}}$ (= 6,80) an.

Der Unterschied zwischen den Ergebnissen Michaelis' und Ronas und den unsrigen hat somit seine Ursache in dem verschiedenen Verfahren, nach dem sie und wir die Wasserstoffionenkonzentration der salzhaltigen Lösung bestimmen. Während wir die elektrometrische Meßmethode benutzen, haben Michaelis und Rona das nicht getan, weil (nach einer gefälligen brieflichen Mitteilung des Herrn Prof. Michaelis) die „Frage, ob man sich in jedem Falle auf die aus der Konzentrationskette gewonnene Berechnung von [H˙] verlassen kann, oder ob nicht unter gewissen Umständen hierbei ähnliche Korrekturen erforderlich werden wie bei den Indicatoren", ihrer Ansicht nach noch nicht erledigt ist. Es läßt sich allerdings nicht in Abrede stellen, daß letzteres, besonders bei sehr großen Salzkonzentrationen, innerhalb der Grenzen der Möglichkeit liegt;[1]) vorläufig kennen wir aber kein anderes Verfahren als die elektrometrische Messung, wenn es sich darum handelt, die Wasserstoffionenkonzentration in Lösungen von solchen Salzgemischen, wie die hier in Rede stehenden, so genau als möglich zu bestimmen. Das von Michaelis und Rona befolgte Verfahren scheint uns jedenfalls nicht empfehlenswert, indem es zweifelsohne immer zu Fehlern größerer oder kleinerer Bedeutung Anlaß gibt. Betrachten wir ein so einfaches und leicht übersehbares Beispiel wie eine wässerige Lösung reinen sek. Natriumphosphats, dann ist es eine allbekannte Sache, daß der Gehalt dieser Lösung an Hydroxylionen (und damit selbstverständlich an Wasserstoffionen) der Hydrolyse des sekundären Phosphats in primäres Salz und Natriumhydroxyd zu verdanken ist, indem das Natriumhydroxyd in Natrium- und Hydroxylionen dissoziiert. Versetzt man diese Lösung mit Natriumchlorid, so wird das zuvörderst bewirken, daß die Dissoziation des Natriumhydroxyds zurückgedrängt, der Gehalt an Hydroxylionen somit kleiner und folglich der Wasserstoffionengehalt größer wird. Bei den Phos-

[1]) Vgl. z. B. S. P. L. Sörensen, diese Zeitschr. 21, 210, Anm., 1909.

phatmischungen muß man mit ganz ähnlichen Änderungen rechnen, die indessen bei Lösungen von nur einigermaßen zusammengesetzter Natur sich einer genauen Berechnung entziehen.

Um den Salzfehler der Indicatoren zu bestimmen, gibt es demzufolge kaum einen anderen Weg als den von uns eingeschlagenen, indem es nicht angängig ist, bei der Bestimmung des Salzfehlers die durch den Salzzusatz bewirkte Wasserstoffionenkonzentrationsänderung zu vernachlässigen, da diese Änderung häufig, besonders bei kleinen Salzmengen, von derselben Größe sein kann wie der Salzfehler des Indicators. Einige der von Michaelis und Rona gemachten Versuche mit Phenolphthalein geben ein charakteristisches Beispiel zur Beleuchtung dieser Frage ab. Es hat sich bei diesen Versuchen gezeigt, daß eine Phosphatmischung, die mit Phenolphthalein eine deutliche rosa Farbe gab, durch einen geringen Zusatz von Kaliumchlorid beinahe farblos wurde, während ein größerer Zusatz die ursprüngliche rosa Farbe wiederherstellte, und eine sehr reichliche Zugabe von Kaliumchlorid die Farbe deutlich rot machte. Nach Michaelis und Rona muß Phenolphthalein demzufolge durch Zusatz von wenig Salz eine Verschiebung gegen die saure Seite, durch Zusatz größerer Salzmengen dagegen eine ebensolche gegen die alkalische Seite hin anzeigen. Eine weit einfachere Erklärung dieser Tatsachen erhält man, wenn man sich erinnert, daß die Zugabe von Salz, außer der Wirkung auf den Indicator, noch eine Änderung der Wasserstoffionenkonzentration zur Folge hat. In den hier erwähnten Versuchen wird die Phosphatlösung als Folge des Salzzusatzes saurer werden, während Phenolphthalein infolge der Salzwirkung eine zu alkalische Reaktion der Lösung zeigt. Die Wirkungen dieser beiden entgegengesetzt gerichteten Faktoren verlaufen nicht parallel: bei einem kleinen Salzzusatz spielt der erste Faktor die Hauptrolle, bei einem reichlichen der letztere.

Auch bei solchen Indicatoren, wo der Salzfehler in derselben Richtung wie die durch den Salzzusatz bedingte Änderung der Wasserstoffionenkonzentration geht, ist es von Bedeutung, auf den Einfluß beider Faktoren zu achten. Als erklärendes Beispiel können wir den früher (S. 412) erwähnten Versuch anführen, in dem die Phosphatmischung: „6,5 sek.

+ 3,5 prim." ($p_{H^{\cdot}} = 7{,}06$) bei der elektrometrischen Messung nach dem Salzzusatz: $p_{H^{\cdot}} = 6{,}66$ gegeben hat. Die salzhaltige Lösung wurde auch mittels Neutralrot als Indicator colorimetrisch gemessen, und wurde dadurch $p_{H^{\cdot}} = 6{,}57$ gefunden. Man sieht, daß Neutralrot eine zu saure Reaktion der salzhaltigen Lösung anzeigt, gleichgültig, ob man den Wasserstoffionenexponenten der Lösung gleich 7,06 oder gleich 6,66 setzt; der Salzfehler aber ist in letzterem Falle nur geringfügig, in ersterem dagegen so groß, daß man, falls diese Betrachtungsweise die richtige wäre, Michaelis und Rona recht geben müßte, daß Neutralrot bei der colorimetrischen Messung salzreicher Lösungen kaum zu gebrauchen wäre.

Schließlich wollen wir nur noch darauf aufmerksam machen, daß auch Michaelis und Rona die Wasserstoffionenkonzentration der neutralsalzfreien Phosphatlösungen auf elektrometrischem Wege bestimmen, indem sie wohl annehmen, daß die anwesenden Phosphate bei der Messung zu keinem Fehler Anlaß geben. Warum kann man dann nicht dieselbe Betrachtungsweise auch anderen, einigermaßen schwachen Salzlösungen gegenüber anwenden?

Da solche einander scheinbar widersprechenden Ergebnisse, wie die in dieser Nachschrift erwähnten, leicht Verwirrung hervorrufen können, so wäre es zu wünschen, daß man zukünftig bei der Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration solcher ganz schwach sauren, neutralen oder ganz schwach alkalischen Lösungen immer von denselben Voraussetzungen ausgeht, oder jedenfalls daß die Grundlage des angewandten Verfahrens scharf pointiert wird. Wie aus dem oben Gesagten hervorgeht, halten wir dafür, daß im Augenblicke kaum ein anderes Verfahren als das elektrometrische als Standardmethode in Frage kommen kann, ganz abgesehen ob die Lösung salzreich ist oder nicht.

Über ein neues Verfahren zur Gewinnung von Glucuronsäure (und Mentholglucuronsäure).

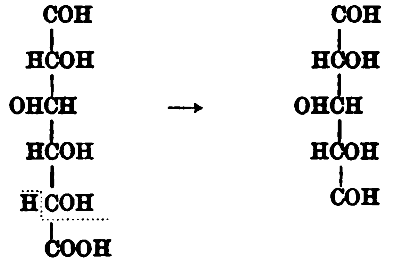
Von

C. Neuberg und S. Lachmann.

(Aus der chem. Abteil. des Pathol. Inst. der Univ. u. der chem. Abteil. des Tierphysiolog. Inst. der Landw. Hochschule, Berlin.)

Die eigentümliche Umwandlung der Kohlenhydratsäuren durch den elektrischen Strom in Aldehydzucker der nächst niederen Reihe[1]) legte es nahe, die Versuche auf die für den Tierkörper so wichtige Glucuronsäure auszudehnen.

Wenn sich dem elektrolytischen Abbauverfahren auch die Glucuronsäure erfolgreich unterwerfen ließe, so wäre es möglich, von ihr zu einem Dialdehyde der Fünfkohlenstoffreihe, und zwar zu dem der i-Xylotrioxyglutarsäure, zu gelangen:



In der Tat wird die d-Glucuronsäure durch den Strom in der Weise verändert, daß eine Substanz von den Eigenschaften eines Dialdehyds entsteht, die z. B. augenblicklich mit Phenylhydrazin reagiert, wie es für ein Homologes des Glyoxals zu erwarten ist. Aber die Abtrennung dieses Körpers von unveränderter Glucuronsäure ist nicht gelungen.

Auf einem Umwege durfte man hoffen, vielleicht zum Ziele zu kommen. Von der Glucuronsäure sind zahlreiche glucosidartige Verbindungen bekannt, die gepaarten Glucuron-

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 7, 527, 1908; C. Neuberg, L. Scott und S. Lachmann, diese Zeitschr. 24, 152, 1910.

säuren, in denen die Aldehydgruppe festgelegt ist. Durch Elektrolyse einer solchen Substanz könnte ein Glucosid des Trioxyglutarsäuredialdehyds:

```
   CHOR                   CHOR
    | \                    | \
  HCOH |                 HCOH |
    |  |                   |  |
  OHCH O       —→        OHCH O
    | /                    | /
   HC                     HC
    |                      |
  H:COH                   COH
  ..........
    |
   COOH
```

und durch dessen Hydrolyse der freie Dialdehyd selbst entstehen.

Bei geeigneter Wahl, z. B. von Mentholglucuronsäure, müßte das entsprechende innere Halbacetal (das Mentholglucosid des Dialdehyds) in organischen Solventien löslich sein und sich dadurch von den darin unlöslichen Salzen unveränderter gepaarter Glucuronsäure trennen lassen.

Leider erwies sich auch dieser Weg als ungangbar, da es sich zeigte, daß sowohl bei Menthol- wie Phenolglucuronsäure der elektrische Strom die Glucosidverbindung sprengt.[1])

Bei Gelegenheit dieser Versuche ergab sich die Notwendigkeit, ein einfaches Verfahren zur Darstellung von Glucuronsäure auszuarbeiten. Die synthetische Bereitung liefert nach E. Fischer und O. Piloty[2]) bisher zu wenig befriedigende Ausbeuten, und dasselbe ist in noch viel höherem Maße bei einer künstlichen Gewinnung der gepaarten Säuren der Fall. In praxi kann man zurzeit größere Mengen Glucuronsäure nur aus dem Jaune-Indien (Piuri) erhalten, allein dieses Material, das früher einen geschätzten Farbstoff bildete, verschwindet immer mehr vom Drogenmarkte, verdrängt durch die künstlichen Anilinfarbstoffe, so daß seine Beschaffung meist nur zu hohen Preisen möglich ist.

Von den gepaarten Glucuronsäuren, die nach Verfütterung zahlreicher Substanzen im tierischen Organismus entstehen, sind nur die wenigsten rein dargestellt worden, und dazu noch meist auf nicht ganz bequemen Wegen. Auch die Gewinnung der freien

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 17, 270, 1909.

[2]) E. Fischer und O. Piloty, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 24, 523, 1891.

Glucuronsäure aus den gepaarten Verbindungen vollzieht sich nicht immer ganz leicht, da sie, in recht verschiedenem Grade, mehr oder minder leicht spaltbar sind. Will man eine dieser durch Verfütterung gebildeten gepaarten Glucuronsäusen zum Ausgangsmaterial für die Darstellung der Glucuronsäure benutzen, so muß

1. der verfütterte Paarling relativ ungiftig für die Versuchstiere sein,

2. die Isolierung der gepaarten Glucuronsäure einfach gelingen und

3. ihre Spaltung leicht von statten gehen.

Diese Bedingungen erfüllt die Mentholglucuronsäure. Diese Säure hat schon A. Bonanni[1]) in Händen gehabt, und kurz darauf ist sie von E. Fromm und P. Clemens[2]) über ein amorphes basisches Bleisalz durch dessen Überführung in das gleichfalls amorphe Bariumsalz und dessen Umwandlung schließlich in das krystallisierte Cadmiumsalz rein dargestellt worden. Es hat sich nun gezeigt, daß man die Mentholglucuronsäure in höchst einfacher Weise mit Umgehung jeglicher Bleifällung als direkt krystallisierendes Ammoniumsalz isolieren kann. Hieraus erhält man ohne weiteres die reine Säure selbst und aus ihr durch Spaltung mit verdünnter Schwefelsäure freie Glucuronsäure.

Darstellung von Mentholglucuronsäure und freier Glucuronsäure.

Der nach Verabfolgung von Menthol an Kaninchen gesammelte Harn wird mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, mit etwa einem Viertel seines Volumens Äther und einem Achtel Alkohol von 98 $^0/_0$ versetzt und 4 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Der abgetrennte und filtrierte Ätherauszug wird mit konzentriertem Ammoniak bis zur ausgesprochen alkalischen Reaktion versetzt und abdestilliert. Von selbst oder auf Zusatz von etwas konzentriertem Ammoniak krystallisiert fast der gesamte Ätherrückstand. Man saugt am nächsten Tage das schwer lösliche mentholglucuronsaure Ammoniak ab und wäscht es mit etwas Wasser. Es verliert an der Luft leicht Ammoniak.

---

[1]) A. Bonanni, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 304, 1902.

[2]) E. Fromm u. P. Clemens, Zeitschr. f. physiol. Chem. 34, 385, 1902.

Unbekümmert darum löst man das Salz in möglichst wenig heißem Wasser, fällt mit Bleiessig, zerlegt den ausgewaschenen, massigen Niederschlag in gelinder Wärme vollständig mit Schwefelwasserstoff und dampft das Filtrat vom Bleisulfid ein. Man erhält sofort analysenreine, freie Mentholglucuronsäure. Sie entsteht auch durch Umkrystallisieren des rohen Ammoniumsalzes aus säurehaltigem Wasser. Sie zeigt alle Eigenschaften sowie Schmelzpunkt und Zusammensetzung, die Fromm und Clemens angegeben haben.

Durch nochmalige Ausschüttelung des Harnes mit Äther-Alkohol und Zugabe von Ammoniak zu dem Auszuge usw. gewinnt man eine zweite Krystallisation; eine dritte Extraktion ist nur lohnend, wenn der Harn noch eine deutliche Linksdrehung zeigt.

Auf diese Weise kann man leicht größere Mengen Mentholglucuronsäure darstellen, da Kaninchen die wochenlange Zufuhr von Menthol mit der Schlundsonde vertragen.

Die Spaltung der Mentholglucuronsäure vollzieht sich leicht beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure. Es empfiehlt sich, die Verarbeitung im einzelnen so vorzunehmen, wie es Neuberg[1]) für die Darstellung von Glucuronsäure aus Euxanthinsäure früher angegeben hat. Das als Produkt der Hydrolyse gebildete Menthol wird natürlich ausgeäthert, anstatt wie das Euxanthon abfiltriert zu werden.

Die vorliegende Mitteilung sei durch zwei weitere Angaben ergänzt, von denen die eine (a) die Technik der Verabfolgung von Menthol und ähnlichen Substanzen an Tiere betrifft, während sich die andere (b) auf das viel benutzte Verhalten der gepaarten Glucuronsäuren zu Bleisalzen bezieht.

a) Bei der Gewinnung gepaarter Glucuronsäuren habe ich seit Jahren beobachtet,[2]) daß im allgemeinen bei Pflanzenfressern der Umfang der Glucuronsäurepaarung größer als bei Carnivoren ist. Für die Darstellung der Glucuronsäureverbindungen aus dem Harn ist eine möglichste Beschränkung des Gehaltes an Hippursäure und Benzoesäure erwünscht. Denn mag die Iso-

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 3315, 1900.

[2]) Vgl. C. Neuberg in den Ergebn. d. Physiol. 3, I, 442.

lierung der gepaarten Glucuronsäuren durch Ausschütteln mit Äther-Alkohol oder durch fraktionierte Bleifällungen erfolgen, fast stets findet man bei sorgfältiger Prüfung zunächst eine Beimischung von aromatischen Harnbestandteilen zu den gepaarten Glucuronsäuren, denen sie manchmal hartnäckig anhaften. Diese Schwierigkeiten kann man auf ein Mindestmaß beschränken, wenn man geeignet ernährte Kaninchen benutzt.

Die orale Verabfolgung wasserunlöslicher Substanzen, wie Menthol, an Kaninchen ist nun unbequem, da Aufschlämmungen in Wasser häufig die Schlundsonden verstopfen. In einfacher Weise kann man sich so helfen, daß man 2 g Menthol unter gelindem Erwärmen in 1 ccm Alkohol löst und dann 20 bis 25 ccm lauwarmes Wasser zufügt. Beim Umschütteln erhält man eine minuten-, manchmal stundenlang beständige Emulsion feinster Öltröpfchen, die anstandslos jede Sonde durchfließt.

Dieser kleine Kunstgriff ist in manchen ähnlichen Fällen anwendbar; die Tiere vertragen die geringe Alkoholquantität ohne weiteres. Vor der Darreichung in Olivenöl, das als Lösungsmittel in Betracht kommt, bietet das Verfahren den Vorteil, daß keine Verminderung der Freßlust und Verdauungsstörung eintritt.

b) Während die Mentholglucuronsäure ohne Benutzung irgend einer Bleifällung leicht dargestellt werden kann, stellt die Isolierung als basisches Bleisalz in vielen Fällen die souveräne Methode der Gewinnung für gepaarte Glucuronsäuren dar. Daher war es von Interesse, an reinem Material die Zusammensetzung eines solchen Bleiniederschlages sowie die Bedingungen der Fällung festzustellen.

Um von den Verhältnissen im Harn nicht allzu weit abzuweichen, wurde 1 g reiner Mentholglucuronsäure in Wasser gelöst und mit so viel Natronlauge versetzt, daß die Reaktion auf Lackmus schwach sauer war. Die Flüssigkeit wurde auf 100 ccm aufgefüllt. Dann wurden 0,5 g festes normales Bleiacetat[1]), die vorher fein gepulvert waren, zugefügt und durch Umschütteln zur Lösung gebracht. Dabei bleibt die Flüssigkeit

[1]) Entsprechend dem Zusatz von Bleizucker zum Harn zwecks Entfernung von Chloriden, Phosphaten, Sulfaten usw., die der Fällung mit Bleiessig vorangehen muß.

völlig klar. Gibt man nun eine filtrierte Lösung von Bleisubacetat hinzu, solange eben noch ein Niederschlag entsteht, so fällt eine voluminöse Verbindung aus. Nach einigem Stehen im verschlossenen Gefäß (Kohlensäureanziehung!) saugt man ab und wäscht gründlich mit kaltem Wasser aus.

Die im Vakuum bei 50° bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Verbindung hat die Zusammensetzung

$$(C_{10}H_{19} . O . C_6H_8O_6)_2Pb . 2PbO,$$

was vielleicht etwa folgendermaßen aufzulösen ist:

```
                |———————— O ————————|     O . Pb . OH
                |                   |    /
C10H19 . O — CH — CH . OH — CH . OH — CH — CH — COO\
                                                    >Pb
C10H19 . O — CH — CH . OH — CH . OH — CH — CH — COO/
                |                   |    \
                |———————— O ————————|     O . Pb . OH
```

0,1551 g Subst.: 0,1067 g $PbSO_4$ (= 0,0729 g Pb)
0,2224 g Subst.: 0,1533 g $PbSO_4$ (= 0,1047 g Pb)
0,1704 g Subst.: 0,1849 g CO_2, 0,0674 g H_2O.

$C_{32}H_{54}O_{16}Pb_3$: Ber. C = 29,20; H = 4,11; Pb = 47,22%;
gef. C = 29,58, H = 4,42; Pb = 47,03 und 47,11%.

Es liegt hier derselbe Typus eines basischen Salzes vor, wie ihn H. Hildebrandt[1]) mehrfach beobachtet hat.

An der Hand der Naphthoresorcinprobe von Tollens kann man sich leicht überzeugen, daß noch gepaarte Glucuronsäure im Filtrat ist, selbst wenn man so viel Bleiessig angewandt hat, daß gerade kein Niederschlag mehr entsteht. Trotzdem haben zahlreiche Versuche, auf deren Wiedergabe im einzelnen verzichtet werden kann, dargetan, daß die Bedingung der möglichst vollständigen Fällung am besten erfüllt ist, wenn bei vorsichtigem Zusatz von Bleiessig zu der gut durchgerührten Mentholglucuronsäurelösung gerade keine Fällung mehr eintritt.

Bei einem Überschuß von Bleisubacetat ändert die anfangs körnige und voluminöse Masse alsbald ihr Aussehen. Sie wird dünnflüssig, ein wenig schleimig und nimmt die Neigung an, durchs Filter zu laufen. Quantitative Bestimmungen zeigten, daß die Menge der Bleifällung erheblich vermindert ist, obgleich der Niederschlag selbst jetzt eine bleireichere Verbindung ist;

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 36, 452, 1902.

sie hat nach gründlichem Auswaschen und Trocknen bei 50° in vacuo die Zusammensetzung[1])

$$C_{10}H_{19} . O . C_6H_7O_6Pb . 2PbO,$$

d. h. etwa den Bau:

```
                |---------O---------|
C10H19 . O — CH — CH ——— CH — CH — CH . O — COO
                  |        |                \   /  .
                O.PbOH   O.PbOH              Pb
```

0,1440 g Subst.: 0,1345 g $PbSO_4$ (= 0,0919 g Pb)
0,2068 g Subst.: 0,1442 g CO_2, 0,0558 g H_2O.

$C_{16}H_{26}O_9Pb_3$: Ber. C = 19,53; H = 2,65; Pb = 63,17%;
gef. C = 18,97; H = 3,00; Pb = 63,82%.

Das bleireichere Produkt (Verhältnis = 1 Glucuronsäureverbindung : 3PbO) ist offenbar leichter löslich als die bleiärmere Verbindung (Verhältnis = 2 Glucuronsäureverb. : 3PbO).

Weitere Versuche haben ergeben, daß nicht nur Bleisubacetat, sondern auch normales essigsaures Blei die Menge der Bleiessigfällung und damit die Ausbeuten herabsetzen kann.

Löst man z. B. in einer mit NaOH bis zur schwach sauren Reaktion versetzten Lösung von 1,0 g Mentholglucuronsäure in 100 ccm Wasser 3,5 g festes, normales Bleiacetat und fällt dann mit Bleiessig, so ist der Niederschlag weit spärlicher als in einer nur geringe Mengen (oder gar kein) Bleiacetat enthaltenden Mentholglucuronsäurelösung. Offenbar liegt dieses daran, daß normales Bleiacetat der basischen Bleiverbindung der gepaarten Glucuronsäure einen Teil ihres PbO-Gehaltes entzieht und sie partiell in das lösliche normale Bleisalz zurückverwandelt, d. h. daß ein Gleichgewichtszustand zwischen normalen und basischen Verbindungen eintritt.

Versuche mit normalem, menschlichem Harn, in dem wechselnde Mengen von mentholglucuronsauren Salzen aufgelöst waren, bestätigten im großen und ganzen die erwähnten Erfahrungen. Daraus ergibt sich als einfache Regel, für eine möglichst vollständige Isolierung gepaarter Glucuronsäuren aus Harn so zu verfahren, daß weder Bleizucker noch Bleiessig im Überschuß zur Anwendung kommen.

---

[1]) Denselben Typus (1 Polyhydroxylkörper : 3PbO) haben Wohl und Neuberg (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 3095, 1900) bei der Bleiverbindung vom Oxim des Glycerinaldehyds beobachtet.

Kleinere Mitteilungen verschiedenen Inhalts.

Von

Carl Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule.)

I.

Über Polarisation.

Die Ermittelung des spezifischen Drehungsvermögens erfolgt bei monochromatischem Licht, in praxi mit der Na-Flamme. In zahlreichen Fällen, namentlich bei der Untersuchung stark gefärbter Substanzen, wird als ein großer Nachteil die geringe Helligkeit empfunden, welche das in den üblichen Gasnatriumlampen verdampfende Chlor- bzw. Bromnatrium ergibt.

In ganz einfacher Weise kann man nun eine bedeutend größere Lichtstärke erzielen, indem man die Temperatur der Natriumflamme erhöht. Das gelingt durch Anwendung solcher Natriumsalze, die in der Gaslampe reichlich Sauerstoff abgaben. Natriumnitrit, Natriumnitrat, chlorsaures sowie bromsaures Natrium sind hierzu geeignet; denn weder die Stickoxyde noch Sauerstoffverbindungen der Halogene geben in der Bunsenflamme ein in Betracht kommendes Eigenspektrum.[1])

In jahrelangem Gebrauche hat sich mir besonders das wohlfeile Natriumnitrit in losen Krystallen bewährt.

Man bringt davon eine nicht zu kleine Quantität auf den Ring bzw. in das Schiffchen der Gasnatriumlampe und erhält dann beim Einführen in den Flammenkegel des Bunsenbrenners ein intensives Natriumlicht, dessen Helligkeit eine bis mehrere Minuten andauert. Dann wird eine neue Füllung nötig.

---

[1]) Mit den schwach verpuffenden Salzen anderer Metalle kann man natürlich auf die gleiche Art entsprechendes Licht verschiedener Wellenlängen erzeugen.

Osazone z. B. und andere Substanzen mit Eigenfarbe können so leicht polarisiert werden.

(Auch durch Einblasen von Sauerstoff sowie mit einer Bogenlampe kann man natürlich größere Lichtstärken erzeugen. Für die Laboratoriumspraxis reicht aber die einfache Anwendung von Natriumnitrit in den gewöhnlichen Gasnatriumlampen völlig aus.)

II.

Über Klärung und Entfärbung.

Für optische Untersuchungen sind von ebenso großer Wichtigkeit wie die Güte der Lichtquelle die Durchsichtigkeit und Farbe der zu prüfenden Lösung. Der native Zustand physiologischer Flüssigkeiten macht oftmals eine Vorbehandlung nötig, die teils die Herstellung der mechanischen Bedingungen für die Durchsicht bezweckt, teils eine chemische Aussiebung von verschiedenen vorhandenen, optisch aktiven Körpern anstrebt.

Sicherer als durch einfache Filtration wird die Klärung vielfach durch Erzeugung eines Niederschlages in der zu untersuchenden Flüssigkeit erreicht. Besonders in der Harnanalyse werden hierzu meist Bleisalze verwendet. Da gegen ihre Benutzung von französischen Autoren (s. S. 426) Einwände erhoben sind, habe ich im Laufe der Zeit auch eine Reihe von anderen Klärmitteln versucht.

a) An Stelle des Bleiacetats kann man mit Erfolg den Eisenessig, den Liquor ferri subacetici, anwenden, der beim Aufkochen eine gute Klärung und Entfärbung zuwege bringt, gleichzeitig auch etwa vorhandenes Eiweiß fällt. Als später Michaelis und Rona[1]) das Ferrum oxydatum dialysatum zur Enteiweißung vorschlugen, zeigte sich, daß kolloidale Eisenhydroxylösung auch allgemein zur Klärung und Entfärbung dienen kann, indem die massigen, durch das Kolloid bewirkten Ausflockungen Trübungen und Farbstoffe mit niederreißen. Vor dem Ferrisubacetat bietet sie den Vorteil, schon in der Kälte zu wirken, wenngleich Aufkochen auch hier häufig fördert und beschleunigt. Außer bei Harn hat sich mir das kolloidale Eisenhydroxyd für die optische Untersuchung des

[1]) Diese Zeitschr. 7, 329, 1907; 14, 476, 1908.

Inhaltes von Cysten, von Faecesextrakten, Fäulnislösungen, Bakterienkulturflüssigkeiten und Hefengärungsrückständen bewährt, ferner bei präparativen Arbeiten zur Entfernung feiner Suspensionen von Bariumsulfat, Bleisulfid, Calciumcarbonat, von Pilzen und Bakterien usw., und es ist nicht zweifelhaft, daß es in zahlreichen entsprechenden Fällen brauchbar ist.

Bei Anwendung sowohl von Ferrisubacetat als von kolloidalem Eisenhydroxyd dürften selbstverständlich keine starken Mineralsäuren zugegen sein, am besten ist eine angenähert neutrale Reaktion. Es sei darauf hingewiesen, daß zur Klärung häufig wenige Tropfen der Eisenlösungen genügen. Hat man zu viel davon zugegeben, so gelingt — und das ist ein besonderer Vorzug des Verfahrens — die Entfernung des kolloidalen Eisenhydroxyds nach Michaelis und Rona[1]) und B. Oppler und Rona[2]) leicht durch Zusatz einer kleinen Menge NaCl oder $MgSO_4$ bzw. eines anderen Salzes mit zweiwertiger Basis, während bei Ferrisubacetat ein Aufkochen mit einem löslichen Acetat (Natriumacetat) nötig ist.

b) Die erwähnten Eisenverbindungen sind nur in Lösung zugänglich, in manchen Fällen ist es jedoch erwünscht, eine Klärung und Entfärbung ohne Verdünnung und durch gar nicht in Lösung gehende Substanzen zu bewirken. Hierzu bewährt sich durchaus das aus der Technik von O. Schweißinger[3]) in die physiologische Praxis eingeführte Kieselgur. Es lag nahe, das von Michaelis und Rona[4]) zur Enteiweißung benutzte Kaolin ebenfalls zu untersuchen. Im allgemeinen ist die aufhellende Kraft von Kieselgur größer; Kaolin wirkt nur dann in befriedigender Weise entfärbend, wenn gleichzeitig fällbare Proteinstoffe oder andere Kolloide zugegen sind.

c) Eine allgemein gültige Vorschrift zur Vornahme von Klärung und Entfärbung läßt sich nicht geben, denn es kommt naturgemäß auf den Zweck an und hängt von dem chemischen Charakter der vorhandenen Substanzen ab.

---

[1]) Diese Zeitschr. 8, 356, 1908; 16, 60, 1909.

[2]) Diese Zeitschr. 13, 121, 1908.

[3]) Pharmac. Centralbl. 40, 68, 1899.

[4]) Diese Zeitschr. 7, 329, 1907.

Für den praktisch wichtigen Fall der polarimetrischen Bestimmung des Zuckers im Harn ist in den letzten Jahren namentlich von französischen Autoren für die Anwendung von Mercurinitrat eifrig plädiert worden. Tanret, Patein und Dufau sowie Denigès haben sich mit diesem Gegenstande beschäftigt und behaupten, daß die Klärung mit Quecksilbernitrat jedem anderen Verfahren bei weitem überlegen sei.

Das erforderliche Mercurinitratreagenz stellt man nach Denigès[1]) folgendermaßen dar, da die ursprünglichen Angaben von Patein und Dufau unzulänglich oder nicht ausführbar sind.

Man trägt in 160 ccm Salpetersäure (D = 1,39), die sich in einer 1 l fassenden Porzellanschale befinden, unter starkem Rühren allmählich 220 g rotes, gut zerkleinertes Quecksilberoxyd ein, derart daß sich keine Klumpen bilden. Nach 5 bis 6 minütigem Stehen in der Kälte fügt man 160 ccm Wasser hinzu und erhitzt zum Sieden. Dann läßt man abkühlen und setzt unter gutem Schütteln 40 ccm einer Natronlauge hinzu, die aus 1 Vol. 30%igem Ätznatron (D = 1,33) und 3 Vol. Wasser gemischt ist. Die Lösung wird in einem Meßkolben auf 1000 ccm aufgefüllt, umgeschüttelt und nach dem Filtrieren in gelben oder roten Flaschen aufbewahrt.

Zuckerhaltige Lösungen, die mit diesem Reagenz ausgefällt werden, nehmen stark salpetersaure Reaktion an und müssen deshalb mit Lauge neutralisiert werden.

Die anfängliche Vorschrift von Patein und Dufau ging dahin, 20,0 ccm Flüssigkeit mit 10,0 ccm Mercurinitratreagenz und dann mit NaOH von 7,5% bis zum Verschwinden der sauren Reaktion auf Lackmuspapier zu versetzen, das Volumen auf 50 ccm zu bringen und zu filtrieren. Wie Denigès betont, erhält man wegen der massenhaften Niederschläge hierbei nicht genug Flüssigkeit für die Polarisation.

Nach einer späteren Vorschrift sollen 50,0 ccm Harn mit 25 ccm der Mercurinitratlösung versetzt, dann mit Lauge neutralisiert und auf 100 ccm aufgefüllt werden. Wie Denigès angibt, ist dieses jedoch nicht realisierbar, da nach der Neutralisation das Volumen an sich schon 100 ccm übersteigt.

Nach Denigès hat sich die Ausführung folgendermaßen zu gestalten. Man versetzt 40,0 ccm Harn mit 20,0 ccm seines Quecksilberreagenzes, schüttelt kräftig um, fügt etwa 20,0 ccm 7,5%ige Natronlauge tropfenweise bis zur neutralen Reaktion auf Lackmus hinzu, füllt auf 100 ccm auf, filtriert und polarisiert dann in einem 50,0 cm-Rohre. Da sich das Filtrat jedoch beim Stehen durch Ausscheidung von Quecksilberver-

[1]) G. Denigès, Ber. des V. internat. Congr. f. angew. Chem. 4, 130, 1903.

bindungen trübt, muß es mit Salzsäure zuvor angesäuert oder von Quecksilber befreit werden.[1])

Die Entfernung von gelösten Mercuriionen wird mit Natriumhypophosphitlösung oder bequemer mit Zinkstaub oder Zinkgranalien vorgenommen, nach Denigès in der Weise, daß 50 ccm des Filtrates mit 4 bis 5 g Zink und 1 Tropfen Salzsäure geschüttelt werden; nach 1 Stunde ist in der Regel die Entquecksilberung beendet.

Besondere Einfachheit und schnelle Ausführbarkeit kann man der Quecksilbermethode nicht nachrühmen. Es ist richtig, daß sie fast immer völlig klare und durchsichtige Lösungen ergibt. Dies steht aber in gar keinem Verhältnis zu den notwendigen großen Harnmengen, dem Zeitaufwande und den Unbequemlichkeiten, welche die bei den weitgehenden Verdünnungen erforderlichen Polarisationsröhren von $^1/_2$ m Länge bedingen. Hierfür eingerichtete Apparate sind in den wenigsten Laboratorien vorhanden.

Ein eingehender Vergleich, dessen Einzelheiten anzuführen sich nicht lohnt, hat nun ergeben, daß für alle praktischen Zwecke die Entfärbung mit normalem Bleiacetat (s. u.) völlig ausreicht und hinsichtlich Schnelligkeit und Bequemlichkeit der Mercurinitratmethode weit überlegen ist.

Zuckerverluste, die mit Bleisalzen zu befürchten sind, treten nicht ein, wenn man ein für allemal den Urin vor dem Bleizusatz mit 1 bis 3 Tropfen Eisessig deutlich sauer macht.

Die Anwendung des normalen Bleiacetates (Bleizuckers) bietet auch den Vorteil, daß man jede Verdünnung vermeiden kann. Schüttelt man 10 bis 12 ccm Harn in einem Reagenzglase mit etwa 2 g fein gepulvertem normalem Bleiacetat oder verreibt beide in einem kleinen Porzellanmörser, so erhält man nach der Filtration eine völlig klare und nahezu farblose Lösung[2])

---

[1]) Die nicht vom Hg befreiten Lösungen greifen mit der Zeit die Metallkappen der Polorisationsröhren stark an.

[2]) Anfänger übersehen häufig, daß das Filtrat selbstverständlich wegen seines Bleigehaltes nur in getrockneten und zuvor mit destilliertem Wasser gespülten Gefäßen aufgefangen werden darf, da sonst Trübungen durch Bleichlorid und -carbonat entstehen.

in einer Menge, die für die Polarisation in den modernen, 5 bis 6 ccm fassenden 2 dcm-Rohren durchaus genügt.

Denigès geht allem Anscheine nach von der Meinung aus, daß die geringe Linksdrehung des normalen Harnes im wesentlichen durch stickstoffhaltige, von Mercurinitrat fällbare Substanzen bedingt sei. Nach den Untersuchungen von Haas, Johannowsky, Galippe, Külz sowie P. Mayer und Neuberg[1]) handelt es sich aber wohl hauptsächlich um gepaarte Glucuronsäuren. Für die noch stärker lävogyren Tierurine macht auch Porcher[2]) dieselbe Annahmen. Besondere Versuche mit Harnen nach Menthol- und Chloralhydratdarreichung haben ergeben, daß die gepaarten Glucuronsäuren durch das Mercurinitratreagenz gar nicht aus ihrer Lösung im Urin entfernt werden können.

Übrigens ist die Linksdrehung des normalen Harnes an sich so gering, daß sie praktisch fast immer vernachlässigt werden kann. So hohe Werte, wie Denigès[3]) angibt (z. B. = — 0,50′), habe ich nie beobachtet; es dürfte sich entschieden um keine normalen Urine gehandelt haben. Die auffällige Behauptung von Denigès, daß die Linksdrehung des Harnes seinem Harnstoffgehalte proportional sei und für jede 10 g Carbamid im Liter — 0,1° betrage, habe ich trotz wiederholter Nachprüfung nicht bestätigen können. Auch seiner Angabe, daß gallenfarbstoffhaltiger Urin durch Bleiacetat nicht geklärt werde, muß ich widersprechen, ebenso der Notiz, daß methylenblauhaltige Harne durch das Quecksilberreagenz entfärbt würden. Methylenblau wird weder durch Bleiacetat noch durch Mercurinitrat aus Harn[4]) gefällt, Gallenfarbstoff dagegen auch durch

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 256, 1900.

[2]) Bull. de la soc. centr. de méd. vet. 1902; Ber. des V. internat. Congr. f. angew. Chem. 4, 146, 1903.

[3]) l. c.

[4]) Bei Anwendung des Mercurinitratreagenzes wird Lauge zugesetzt (s. oben); wenn dabei Entfärbung eintritt, so handelt es sich einfach um eine Reduktion des Methylenblaues zur Leukoverbindung durch die reduzierenden Substanzen des Harns in alkalischem Milieu. Beim Stehen des Filtrates an der Luft erfolgt wieder Bläuung. Methylenblau wird weder durch Mercurisalze noch durch Bleiacetat gefällt, auch Kaolin und Kieselgur schlagen es nicht völlig nieder; Phosphorwolframsäure in schwach mineralsaurer Lösung fällt in vielen Fällen, aber nicht immer, das Methylenblau.

essigsaures Blei fast stets aus Harn (vgl. E. Salkowski, Practicum, 3. Aufl., 1906, S. 179) entfernt.

Nebenbei sei übrigens bemerkt, daß auch für die einfache qualitative Prüfung auf Zucker nach Fehling oder Trommer eine Entfärbung mit Bleizucker einer solchen mit Mercurinitrat durchaus vorzuziehen ist. Denn für Anstellung der genannten Reduktionsproben ist die vorherige lästige Entfernung des Quecksilbers erforderlich, während Bleisalze wegen ihrer Löslichkeit in Natronlauge und in alkalischem Seignettesalz nicht stören.

d) Bei komplizierter Zusammensetzung physiologischer Flüssigkeiten, z. B. bei gleichzeitiger Anwesenheit von Zucker und Aminosäuren oder anderen optisch aktiven Substanzen, reicht freilich die Vorbehandlung mit Bleiacetat nicht aus, um polarimetrisch einwandsfreie Resultate zu erzielen. Allein hier versagt auch das Mercurinitratreagenz, wie denn überhaupt für solche Fälle noch die Methoden fehlen.

Das folgende Beispiel zeigt, wie man hier im Prinzip vorgehen kann und zu einigermaßen befriedigenden Ergebnissen gelangt ist.

Es handelte sich um einen Fall von akuter gelber Leberatrophie, wo im Harn Aminosäuren und Zucker zugegen waren. Um zu brauchbaren Polarisationswerten zu gelangen, wurden 100 ccm Harn mit Essigsäure angesäuert, dann mit Phosphorwolframsäure ausgefällt und mit Baryt behandelt. Das Filtrat vom Bariumphosphorwolframat wurde sofort mit Essigsäure angesäuert, im Vakuum auf 30 ccm eingeengt und dann mit einem Gemisch von je 5g fein gepulvertem Bleiacetat und Mercuriacetat im Mörser verrieben. Für die filtrierte Lösung ergab sich im Polarisationsapparat ein Gehalt von 0,5 % Traubenzucker, während die Titration (nach Ausfällung der Schwermetallsalze durch Schwefelwasserstoff, nach Neutralisation mit Soda und entsprechender Konzentration) den Wert 0,55 % d-Glucose lieferte.

Will man für spezielle Zwecke neben anderen Fällungsmitteln auch Quecksilbersalze verwenden, so erweist sich übrigens das Mercuriacetat in jeder Beziehung dem Quecksilbernitrat als überlegen.[1]) Jeder Harn, jede tryptische Verdauungsflüssigkeit oder ein durch Säurehydrolyse erhaltenes Gemisch von Eiweißspaltungsprodukten gibt nach völliger Ausfällung mit Quecksilbernitrat noch reichliche Niederschläge mit Mercuriacetat. (Fast allgemein ist das Fällungsvermögen an Essigsäure gebundener Metalloxyde größer als das der Salze mit

[1]) Vgl. C. Neuberg u. S. Lachmann, diese Zeitschrift 24, 171, 1910.

starken anorganischen Säuren.) Ein Verlust an Zucker tritt durch Anwendung von essigsaurem Quecksilber nicht ein; für Zwecke der Entfärbung und Klärung läßt sich Mercuriacetat genau wie Bleiacetat ohne weiteres in fester Form verwenden, während das salpetersaure Quecksilber freie Salpetersäure enthält und abgibt, die dann mit Lauge neutralisiert werden muß.

Es sei jedoch nochmals betont, daß für gewöhnliche Zuckerharne die Entfärbung mit Bleiacetat völlig ausreicht.

Nach den obigen Darlegungen ist es ganz klar, daß es sich überhaupt empfiehlt, von jedem Klärungsmittel abzusehen, sobald es die optischen Verhältnisse irgend gestatten. Insbesondere bei eiweißfreien Harnen erreicht man durch eine Vorbehandlung gar nichts, da die am häufigsten vorhandenen Begleiter des Zuckers, wie gepaarte Glucuronsäuren oder β-Oxybuttersäure, nicht entfernt werden. Die Eigenfarbe des Urins stört aber nicht, die mit Auerlicht beleuchteten Quarzkeilkompensationsapparate oder mit einer intensiven Na-Flamme (s. S. 423) erhellten Polarimeter gestatten ohne weiteres die Durchsicht durch 1- oder 2 dm-Rohre. Trübe Harne, wie sie bei Phosphaturie entleert werden, und manche Tierurine (z. B. häufig Kaninchenharne) kann man in der einfachsten Weise durch einen Tropfen Eisessig klären, der die Carbonate und Phosphate löst.

III.

Über einige Reaktionen vergorener Zuckerlösungen.

Um neben gärungsfähigem Zucker andere optisch aktive Substanzen nachzuweisen, aber auch zu präparativen Zwecken ist es allgemein üblich, nach Ablauf der Gärung die vorhandene Drehung festzustellen; dabei hat man sich bisher keine Rechenschaft über die äußerst wichtige Frage gegeben, welchen polarimetrischen Effekt eigentlich vergorene Zuckerlösungen an sich aufweisen.

Versuche hierüber wurden folgendermaßen angestellt:

100 g reinster Zucker (teils Trauben-, teils Rohrzucker) wurden in 1 l Wasser gelöst und mit 50 g ganz frischer und bester Preßhefe teils im Thermostaten, teils bei Zimmertemperatur vergoren. Wenn eine Probe nach 36 bis 48 (in einzelnen Fällen nach 60) Stunden die Beendigung der Gärung anzeigte, wurde

vorsichtig von dem Hefensatz abgegossen,[1]) die so erhaltene Flüssigkeit, deren Volumen im Durchschnitt $^4/_5$ der ursprünglichen Menge betrug, durch dichtes Filtrierpapier völlig klar[2]) filtriert und dann in einer emaillierten Eisenschale auf dem Wasserbade eingeengt. Nach Konzentration auf etwa 50 ccm wurde von den stets vorhandenen Abscheidungen abfiltriert und das klare Filtrat auf 80 ccm ergänzt. Der Gehalt entspricht dann recht angenähert einer Konzentration des ursprünglichen Gärgutes auf $^1/_{10}$.

Von 18 Versuchen verliefen 17 — 8 mit Glucose, 9 mit Rohrzucker — einwandsfrei. (Einer muß aus der Betrachtung ausscheiden, da sich nach dem Einengen noch gärungsfähiger Zucker vorfand; es war dieses ein Versuch mit Traubenzucker, der 36 Stunden gedauert hatte und bei dem sich in der Verdünnung kein reduzierender Zucker mehr hatte nachweisen lassen.)

In allen diesen 17 Fällen erwies sich die Flüssigkeit als optisch aktiv, die Drehungsrichtung war jedoch verschieden.

In 3 der 9 Rohrzuckerversuche war sie links, in 6 Fällen rechts.

In 4 der 8 Traubenzuckerversuche bestand Linksdrehung, in 4 Rechtsdrehung.

Die beobachteten Drehungswerte lagen in einem Prozente Traubenzucker anzeigenden Apparate zwischen $-1{,}3\,^0/_0$ und $+0{,}9\,^0/_0$.

Reduktionsvermögen der auf $^1/_{10}$ konzentrierten Flüssigkeit gegen Fehlingsche Mischung bestand in keinem Falle, ausnahmslos aber ein solches gegen warme alkalisch-ammoniakalische Silberlösung.

Die α-Naphthol-Reaktion wurde mit ihr in keinem Falle vermißt, im Gegensatz zu den Angaben mancher Autoren, daß vergorene Zuckerlösungen die α-Naphtholreaktion auf Kohlenhydrate

---

[1]) Das im Hefensatz verbleibende Fünftel der Flüssigkeit wurde absichtlich vernachlässigt, um bei der langsamen Filtration dieser Masse die Bildung löslicher autolytischer Produkte (E. Salkowski, Kutscher, Schenk) zu vermeiden.

[2]) Eventuell unter Zusatz einiger Kubikzentimeter kolloidaler Eisenhydroxydlösung oder auch von Kaolin (s. S. 425).

nicht mehr zeigen sollen. Das ist aus mehrfachen Gründen unwahrscheinlich. Denn einmal vollziehen sich, wie E. Bucher und J. Meisenheimer[1]) nachgewiesen haben, während der Gärung — wenigstens mit Hefenpreßsaft — Reversionsvorgänge unter Rückbildung von echten Kohlenhydraten, dann entsteht nach A. Harden und W. J. Young[2]), Iwanow[3]) und v. Lebedew[4]) eine Kohlenhydratphosphorsäure, welche der Gärung entgeht, und schließlich treten (s. unten) Pentosen[5]) bzw. Nucleinsäure auf, die aus der Hefe stammen.

Die Tollenssche Probe mit Phlorogluoin war in keinem Falle deutlich, 5mal wurde eine positive Orcinreaktion erhalten. Mit Naphthoresorcin, Salzsäure und Äther gelang zweimal sicher, einmal andeutungsweise der Nachweis von Carbonylsäuren.[6]) Milchsäure war meistens zugegen.

Eiweiß ist in keinem Falle aufzufinden gewesen; soweit etwas aus abgestorbener Hefe in Lösung gegangen sein sollte, war es bei der weitgehenden Konzentration längst ausgefallen, bzw. durch das zugesetzte kolloidale Eisenhydroxyd entfernt. Auch eine nochmalige Enteiweißung der endgültigen Lösung mit kolloidalem Ferrihydroxyd war ohne Einfluß auf das beobachtete Drehungsvermögen. Wohl aber konnte mehrmals eine intensive rosafarbene Peptonreaktion bei der Biuretprobe beobachtet worden. Aminosäuren waren durch direktes Eindampfen nicht zu isolieren, entsprechend ihrer von F. Ehrlich[7]) aufgefundenen Vergärbarkeit durch Hefe, einer Eigenschaft, die jedenfalls vielen von ihnen zukommt.

Mit kalter ammoniakalischer Silberlösung erhält man den charakteristischen flockig-gallertigen Niederschlag von Silberverbindungen der Purine.

---

[1]) E. Buchner und J. Meisenheimer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 3201, 1906.

[2]) Proc. Chem. Soc. 21, 189, 1905; 23, 65, 1907; 24, 117, 1908 und Proc. Roy. Soc. B. 81, 528, 1909.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 281, 1907.

[4]) Diese Zeitschrift 20, 114, 1909.

[5]) Vergl. C. Neuberg und R. Milchner, Über das Verhalten der Kohlenhydrate bei der Autolyse und zur Frage der Bindung der Kohlenhydratgruppe in den Eiweißkörpern. Berlin. klin. Wochenschr. 1904, Nr. 41.

[6]) s. S. 436.

[7]) Diese Zeitschrift 1, 8, 1906.

Anorganische Phosphorsäure ist stets zugegen; nach ihrer Entfernung mit Magnesiamixtur und Veraschen bzw. längerem Kochen des Filtrates mit Salpetersäure ist auch in organischer Bindung vorhandene Phosphorsäure nachweisbar.

Mit Tannin und Phosphorwolframsäure entstehen Fällungen, Bleiacetat erzeugt einen schwachen, Bleiessig einen starken Niederschlag.

Wie erwähnt, besteht kein direktes Reduktionsvermögen gegen Fehlingsche Lösung. Nach aufeinander folgender Behandlung mit Phosphorwolframsäure, Barytwasser und Bleiacetat konnte in 2 von 7 Fällen ein geringer Ausfall von rotem Kupferoxydul beobachtet werden. (Eine gelinde Reduktionskraft, die Grün- bzw. Weißgrünfärbung (Purine), aber keine Cu_2O-Abscheidung verursacht, war öfter bemerkbar.)

Erwärmt man nach Zugabe von $^1/_5$ Volumen rauchender Salzsäure $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde im Wasserbade, so stellt sich nunmehr ausgesprochene Wirkung auf die Fehlingsche Mischung ein. Wahrscheinlich findet eine Hydrolyse von Reversionsprodukten, von Nucleinsäure u. dgl. statt.[1]) In 2 Fällen, wo Linksdrehung (— 0,4 $^0/_0$ und — 0,3 $^0/_0$) bestanden hatte, trat Rechtsdrehung (+ 0,3 $^0/_0$ und + 0,25 $^0/_0$) ein, und eine zuvor dextrogyre Flüssigkeit (+ 0,4 $^0/_0$) zeigte nach der Hydrolyse eine gesteigerte Rechtsdrehung (+ 0,6 $^0/_0$).

Nach all dem Angeführten muß man wohl annehmen, daß das unzweifelhafte Drehungsvermögen vergorener Zuckerlösungen durch ein kompliziertes Gemisch von Substanzen bedingt ist, die teils durch synthetische Prozesse bei dem Gärungsvorgange entstehen, teils aus einem autolytischen bez. proteolytischen Abbau von Leibessubstanz der Hefe hervorgehen. Je nach dem physiologischen Zustande der Hefe wird der Chemismus ein anderer und damit das resultierende Drehungsvermögen verschieden sein. Selbstverständlich müssen Versuche im großen und mit frischen Reinzuchthefen angestellt werden, bevor man zu einem Urteil über

---

[1]) Man könnte auch an eine Beteiligung der Youngschen Hexosephosphorsäure denken, wenngleich kein sicherer Eintritt der Seliwanowschen Reaktion beobachtet wurde, die mit dieser Substanz positiv ausfällt; die dextrogyre Hexosephosphorsäure liefert durch Hydrolyse eine linksdrehende Lösung.

die dabei auftretenden Substanzen gelangen kann. Vorläufig genüge hier der Hinweis, daß aus dem Drehungsvermögen und aus den Reaktionen vergorener zuckerhaltiger Flüssigkeiten Schlußfolgerungen nur mit Vorsicht gezogen werden dürfen, daß die Präexistenz von Substanzen, wie Pentosen, gepaarten Glucuronsäuren, β-Oxybuttersäure, wie leicht ersichtlich, vorgetäuscht werden kann.

IV.

Wismutjodidjodwasserstoffsäure als Basenfällungsmittel.

Ein recht brauchbares Fällungsmittel für eine Reihe basischer Substanzen ist das sog. Dragendorffsche[1]) Reagens (Wismutkaliumjodid), das aus einer Lösung von Wismutsubnitrat in Salpetersäure durch Zusatz von Jodkalium hergestellt wird. Wenn dieses Reagenz nicht häufiger angewandt wird, so liegt das daran, daß einerseits die erhaltenen Jodwismutdoppeljodide öfter durch anhaftende Nitrationen verunreinigt sind, andererseits aus dem Filtrat der Niederschläge das Fällungsmittel wegen seines Nitratgehaltes in praxi nicht zu entfernen ist.

Zu einer von beiden Mängeln freien Form des Wismutjodidjodwasserstoffreagenzes kommt man leicht in folgender Weise:

a) Wismutjodidjodbarium. Man löst 118 g käufliches Wismuttrijodid in einer konzentrierten Lösung von 65 g käuflichem Jodbarium ($BaJ_2 . 2H_2O$); die Lösung wird, ev. unter Zusatz einiger Tropfen HJ oder HCl, auf 500 ccm verdünnt. Die Lösung ist gelbrot und entspricht der Zusammensetzung $4BiJ_3 . 3BaJ_2$.

b) Wismutjodidjodammonium. Man trägt in eine Lösung von 43,5 g Ammoniumjodid in 200 ccm Wasser 118 g Wismutjodid ein und verdünnt, im Bedarfsfalle unter Zusatz von ein wenig HJ oder HCl mit Wasser auf 500 ccm.

Die Flüssigkeit, die gelbrot gefärbt sein muß, entspricht der Zusammensetzung $2 BiJ_3 . 3NH_4J$.

Statt von fertigem Wismuttrijodid auszugehen, kann man auch Wismuthydroxyd oder Wismutcarbonat in der gerade nötigen Menge Salzsäure — die Quantität schwankt bei den käuflichen trockenen Wismutpräparaten — lösen und dann dem (in einer kleinen Probe) titrimetrisch ermittelten Chlorgehalte entsprechend mehr BaJ_2 bzw. NH_4J zufügen.

---

[1]) Dragendorff, Zeitschr. f. Chem. 1866, 478. — Kraut, Annal. 210, 310.

Die angegebene Zusammensetzung der Lösungen ist gewählt, um Jod zu sparen; denn die Wismutdoppeljodide der Basen haben meist die Formel $(Base)_2 . 3\,HJ . 2\,BiJ_3$, d. h. sie enthalten auf 3 Mol. einsäurige Base 2 Atome Wismut und 9 Atome Jod.

Aus der Mutterlauge der Basenwismutjodide können in jedem Falle die zugesetzten Elemente restlos entfernt werden (Halogen durch Blei- oder Silberoxyd, wobei auch der größte Teil des Wismuts ausfällt, Barium durch Schwefelsäure, Ammoniak durch Baryt oder Bleioxyd, gelöstes Wismut durch Schwefelwasserstoff); die Basendoppeljodide selbst können je nach Bedarf durch H_2S oder Ag_2O bzw. $PbCO_3$ zerlegt werden.

V.

Zur Ausführung der Kjeldahlbestimmung.

In den Fällen, wo der Aufschluß organischer Substanzen durch Schwefelsäure unter Zusatz einer katalytisch wirkenden Quecksilberverbindung erfolgt, muß schließlich bei der Ammoniakdestillation für eine Zerlegung des gebildeten Amidomercurisulfates $Hg(NH_3)_2 . SO_4$ gesorgt werden. Für diesen Zweck habe ich früher das Natriumthiosulfat[1]) vorgeschlagen, das seitdem vielfach eingeführt ist.

Wiederholt habe ich nun zu beobachten Gelegenheit gehabt, daß Anfänger einen Fehler begehen können, wenn sie die Menge der das NH_3 freimachenden Lauge zu niedrig berechnen und zu der dann noch schwefelsauren Flüssigkeit das Natriumthiosulfat setzen. In diesem Falle kann ein Teil der flüchtigen schwefligen Säure in die Vorlage gelangen

$$(Na_2S_2O_3 + H_2SO_4 = Na_2SO_4 + H_2O + S + SO_2)$$

und deren Säuretiter erhöhen. Ergibt sich nachher, daß der Inhalt des Destillationskolbens noch sauer reagiert, so wird der durch die entwickelte schweflige Säure bedingte Fehler leicht übersehen.

Solche Bestimmungen müssen verworfen werden. Man kann aber von vorneherein derartigen Fehlern vorbeugen, wenn man an Stelle des Natriumthiosulfats das gleichfalls feste Kaliumxanthogenat ($C_2H_5O \cdot CSSK$) anwendet, und zwar

---

[1]) C. Neuberg, Zur Methodik der Kjeldahlbestimmung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 214, 1902.

etwa 1,0 g für 0,4 g HgO. Das xanthogensaure Kalium liefert selbst bei saurer Reaktion[1]) nichts ins Destillat, das den Titer verändert. In alkalischer Lösung zerlegt es das Amidomercurisulfat glatt wie Alkalisulfid. Die Resultate sind nach den vorgenommenen Kontrollbestimmungen genau.

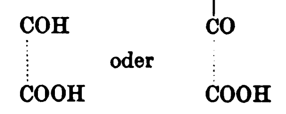
VI.

Erfahrungen über die Naphthoresorcinreaktion.

Vor einiger Zeit haben J. A. Mandel und C. Neuberg[2]) gefunden, daß die farbenprächtige Reaktion von B. Tollens[3]) zwischen Glucuronsäure, Naphthoresorcin, Salzsäure und Äther auch mit einer großen Reihe von Substanzen positiv ausfällt, die in mehr oder minder naher Beziehung zu den Kohlenhydraten stehen.

Bei der großen Wichtigkeit, die eine einfache und schnelle Erkennbarkeit der Glucuronsäure für physiologisch-chemische Zwecke besitzt, ist es wohl angebracht, weitere Erfahrungen mit der Naphthoresorcinprobe mitzuteilen, die ich während $1^1/_2$ Jahren gesammelt habe und die eine Beurteilung der Reaktion gestatten.

a) Zunächst ist die Zahl der Substanzen, die mit Naphthoresorcin und Salzsäure wie die Glucuronsäure reagieren, d. h. einen in Äther mit violetter, bläulicher oder blauroter Nuance löslichen Farbstoff mit einem mehr oder minder deutlichen Absorptionsband in der Gegend der D-Linie bilden, noch gewachsen. Ich verweise diesbezüglich auf eine Reihe von Angaben, die ich inzwischen gemacht habe.[4]) Soweit sich übersehen läßt, handelt es sich durchgehends um Carbonylsäuren, d. h. um Substanzen, welche die Atomgruppierungen



[1]) Die freie Xanthogensäure zerfällt nur langsam und ergibt an flüchtigen Produkten höchstens etwas CS_2, der ohne Einfluß auf den Titer der vorgelegten Säure ist.

[2]) J. A. Mandel und C. Neuberg, diese Zeitschr. 13, 148, 1908.

[3]) B. Tollens, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41. 1788, 1908.

[4]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 13, 305, 1908; 17, 270, 1909; 20, 526, 1909; 20, 531, 1909; 24, 152 und 166, 1910.

enthalten und in einfacher Weise aus zahlreichen wichtigen Naturstoffen, wie Zuckern, mehrwertigen Alkoholen, Oxysäuren, Amino-, Oxyamino- und Diaminosäuren sowie Proteinen, hervorgehen.

Wir sind über das regelmäßige Vorkommen solcher Carbonylsäuren in der Natur nicht orientiert. Ihre leichte Bildung, die z. B. schon beim Stehen im Sonnenlichte in Gegenwart von Spuren Metallsalzen erfolgt, macht ein Auftreten recht wahrscheinlich, und Beobachtungen von O. Neubauer[1]) legen die Vermutung nahe, daß sie auch im intermediären Stoffwechsel erscheinen.

b) Mit Veränderungen durch das Licht hängt wohl auch folgende Beobachtung zusammen. Verwendet man zur Anstellung der Probe eine 1⁰/₀ige alkoholische Lösung von Naphthoresorcin (B. Tollens) und läßt die alkoholische Lösung des Reagenzes in Sommertagen in Flaschen aus gewöhnlichem weißen Glase stehen, so tritt nach weniger Zeit beim Erwärmen des Reagenzes allein mit Wasser und Salzsäure vom spez. Gew. 1,19 ein Farbstoff auf, der sich mit violetter bis rotstichiger Nuance in Äther löst. Man darf vielleicht annehmen, daß es sich um einen geringfügigen Übergang von Alkohol (vielleicht über Essigsäure oder Glykolsäure) in Glyoxalsäure handelt, deren entsprechendes Verhalten gegen Naphthoresorcin Mandel und Neuberg früher angegeben haben.

Bei mehrmonatlicher Aufbewahrung der alkoholischen Naphthoresorcinlösung erfolgt Dunkelfärbung, und an Stelle der violettroten Nuance tritt dann ein in Äther schmutzig-braun löslicher Farbstoff auf, sobald man mit Wasser und Salzsäure erwärmt.

Eine Verharzung tritt auch langsam ein, wenn man die alkoholische Naphthoresorcinlösung in braunen Gefäßen aufbewahrt.

Deshalb stelle ich die Probe mit festem Naphthoresorcin an; diese Ausführungsform ist zwar weniger ökonomisch, aber sicherer.

c) C. Tollens[2]) hat die Naphthoresorcinprobe von B. Tollens für physiologische Zwecke angewandt und jüngst die Meinung ausgesprochen, daß der der Glucuronsäureprobe gleiche oder ähnliche Ausfall der Reaktion mit den von Mandel und

[1]) O. Neubauer, Deutsches Arch. f. klin. Med. 95, 111, 1909.
[2]) C. Tollens, Münch. med. Wochenschr. 56, 652, Nr. 13, 1909.

Neuberg angeführten Substanzen zu keinen Täuschungen Anlaß geben könne, da diese Verbindungen zum Teil in der Natur nicht vorkämen oder dem Ätherauszuge eine andere Nuance erteilten.

Nach den unter a) auseinandergesetzten Gründen kann ich dieser Ansicht nicht beipflichten. Denn einmal sind wir nicht im entferntesten über die in Spuren als Stoffwechselendprodukte auftretenden Substanzen unterrichtet, und andererseits ist die Beurteilung von Nuancen etwas sehr Subjektives, ganz davon abgesehen, daß der Farbenton der Reaktion an sich ein wenig, bedeutend aber bei Anstellung der Probe mit Harn schwankt.

Davon kann man sich leicht überzeugen, wenn man die Reaktion einige hundert Mal ausgeführt hat; auch B. Tollens hat das schon früher angedeutet[1]) und jüngst ganz klar ausgesprochen[2]); er gibt zuletzt an, daß die Probe auch einen roten bzw. rotbraunen Farbenton zeigen kann. Ganz die gleichen Nuancen weisen nun zahlreiche der erwähnten, von Glucuronsäure ganz verschiedenen Substanzen auf, bei zum Teil ähnlichem Spektralbilde; jedenfalls haben uneingeweihte Beobachter, denen die Reaktionen gezeigt wurden, keine Unterscheidung machen können.

Unzweifelhaft ist es aber, daß bei einer colorimetrischen[3]) Verwertung der Naphthoresorcinreaktion der Glucuronsäure fremde Carbonylsäuren eine vollkommene Entstellung zuwege bringen können.

Man kann z. B. durch Zusatz einer Spur Glucuronsäure zu einer Lösung von Glyoxalsäure oder von den Verbindungen, die bei Einwirkung von Sonnenlicht auf Weinsäure entstehen, leicht eine Probe erhalten, die bei typischem spektralen Bilde eine enorme Glucuronsäurequantität anzeigen würde, also zu ganz falschen Vorstellungen führt.

d) Daß in manchen Urinen tatsächlich Substanzen vorkommen, welche die Naphthoresorcinprobe stärker erscheinen lassen, als dem vorhandenen Glucuronsäuregehalte entspricht, scheint mir auch aus folgendem hervorzugehen.

---

[1]) B. Tollens, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 1788, 1908.

[2]) B. Tollens, Biochem. Arbeitsmethoden von Abderhalden, 2, 98, 1909.

[3]) C. Tollens, Zeitschr. f. physiol. Chem. 61, 109. 1909.

Man kann nicht selten Harne beobachten, die eine erhebliche Naphthoresorcinreaktion geben, aber sich nicht mit Orcin, Salzsäure und Amylalkohol in der bekannten Weise färben.[1])

Wie ich schon früher erwähnt habe, ist die Naphthoresorcinprobe nicht schärfer als die Orcinreaktion bei gepaarten Glucuronsäuren.

Ein Vergleich[2]) ergibt folgendes:

	Reaktion mit	
	Naphthoresorcin	Orcin
1 ccm einer Lösg. von 0,1 g krystallis. Mentholglucuronsäure in 100 ccm Wasser	+	+
1 „ einer Lösg. von 0,01 g krystallis. Mentholglucuronsäure in 100 ccm Wasser	+	+
1 „ einer Lösg. von 0,005 g krystallis. Mentholglucuronsäure in 100 ccm Wasser	+	+
1 „ einer Lösg. von 0,001 g krystallis. Mentholglucuronsäure in 100 ccm Wasser	unsicher	unsicher

e) Im Gegensatz hierzu möchte ich auf Fälle aufmerksam machen, wo die Naphthoresorcinreaktion trotz unzweifelhafter Anwesenheit von Glucuronsäure negativ ausfällt.

Das trifft nämlich dann zu, wenn Substanzen zugegen sind, welche das Naphthoresorcin abfangen. Als solche kommen, wie jüngst schon A. Jolles[3]) angegeben hat, Traubenzucker, Form-

[1]) Solche Harne erwähnt jüngst auch H. Ellenbeck, diese Zeitschr. 24, 34, 1910.

[2]) Für freie Glucuronsäure fand A. Jolles (Ber. d. Deutsch. pharm. Ges. 1909) etwas andere Werte.

[3]) Den in anderer Richtung sich bewegenden Ausführungen von Jolles (l. c.) über die Naphthoresorcinreaktion kann ich durchaus beistimmen bis auf die Angabe, daß auch d-Gluconsäure eine positive Naphthoresorcinprobe geben solle. Für wirklich reine d-Gluconsäure (mehrfach umkrystallisiertes Calciumsalz) trifft das nicht zu; ein positiver Ausfall der Naphthoresorcinreaktion ist auf eine Verunreinigung der rohen d-Gluconsäure zu beziehen. Letztere besteht in einer Carbonylsäure, der sogenannten Oxygluconsäure, $C_6H_{10}O_7$, die bei der Bildung der d-Gluconsäure aus Traubenzucker und Brom durch eine Einwirkung des Halogens auf die fertige Gluconsäure entsteht (vgl. W. Tiemann, Zeitschr. d. Vereins d. deutsch. Zuckerind. 40, 787; O. Ruff, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 2269, 1899). Durch Umkrystallisieren ist diese

aldehyd und Acetaldehyd in Betracht. Außer diesen 3 Körpern belegen jedoch alle Carbonylverbindungen das Reagenz mit Beschlag, so daß sämtliche Kohlenhydrate, Aceton und Acetessigsäure stören, ebenso alle Substanzen, die bei Anstellung der Probe mit HCl Carbonylverbindungen abspalten, wie Allantoin, Polysaccharide, Nucleinsäuren usw.

Besonders hindernd wirken Fruchtzucker, Saccharose und Pentosen. Sind, wie das unter natürlichen Verhältnissen nicht selten eintritt, viel derartige Substanzen neben wenig Glucuronsäure zugegen, so wird sämtliches Naphthoresorcin von der Glucuronsäure abgelenkt. (Eine Entfernung gärungsfähiger Zuckerarten durch Hefe empfiehlt sich nicht, da bei der Gärung mit Naphthoresorcin reagierende Körper in Lösung gehen können [s. S. 432]). In allen diesen Fällen ist es deshalb für einen sicheren Ausfall der Probe notwendig, einen ausreichend großen Überschuß von Naphthoresorcin anzuwenden. Mit diesen Verhältnissen hängt es vielleicht zusammen, daß A. Jolles[1]) in Diabetikerharnen mit hohem Traubenzuckergehalt nie Glucuronsäure nachweisen konnte.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die Tollenssche Naphthoresorcinreaktion bei richtiger Ausführung eine ausgezeichnete Probe auf Carbonylsäuren ganz allgemein darstellt.

Oxygluconsäure leicht abzutrennen. Ganz ebenso liegen die Verhältnisse bei rohem saurem d-zuckersaurem Kalium, bei manchen Proben von Glycerinsäure des Handels und namentlich bei der Schleimsäure, die vielfach eine ausgesprochene Naphthoresorcinreaktion mit typischem Streifen geben. Nach mehrfachem Umkrystallisieren, bzw. nach Reinigung über ein krystallisiertes Salz verschwindet die Naphthoresorcinprobe. Letztere zeigt, wie ich das wiederholt betont habe, gerade an, daß kleine Mengen Carbonylsäuren eben bei den verschiedensten Oxydationsvorgängen gebildet werden.

Für die besondere Neigung der Carbonylsäuren, sich den normalen Säuren der Kohlenhydrate beizumischen, ist ein charakteristisches Beispiel der Fall der Schleimsäure, die trotz ihrer großen Schwerlöslichkeit leicht einen solchen Begleiter einschließt; übrigens haben E. Fischer und Herz (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 25, 1249, 1892) schon vor nahezu 20 Jahren darauf hingewiesen, daß die in der gewöhnlichen Weise isolierte Schleimsäure trotz ihres schönen Aussehens unrein ist.

[1]) l. c.

VII.

Über eine Verschärfung der Tryptophanprobe.

Die alte Farbenreaktion des Tryptophans von Tiedemann und Gmelin, die Rotfärbung mit Brom- oder Chlorwasser (Proteinochromogenprobe), ist in letzter Zeit durch die schärfere Glyoxylsäureprobe von Hopkins und Cole etwas aus der physiologisch-chemischen Praxis verdrängt. Die Reaktion mit Halogenwasser bietet jedoch in gewissen Fällen Vorteile, denn sie fällt, so weit bisher bekannt ist, nur mit freiem Tryptophan positiv aus, im Gegensatz zur Glyoxylsäurefärbung, die sich mit allen Tryptophan enthaltenden Eiweißkörpern und Peptiden einstellt und überhaupt mit vielen, den Indolring beherbergenden Substanzen eintritt.

Deshalb haben jüngst auch O. Neubauer und H. Fischer[1]) die Bromwasserreaktion für fermentdiagnostische Zwecke (bei Carcinom) verwendet, indem der positive Ausfall der Reaktion die enzymatische Spaltung des benutzten Glycyl-tryptophans anzeigt, während das Dipeptid sich nicht rötet.

Gerade die Anwendung für klinische Zwecke bringt es mit sich, daß öfters trübe oder an sich gefärbte Lösungen zu untersuchen sind, in denen die zarte Nuance des Halogentryptophans verdeckt oder abgeschwächt wird.

Auch in diesen Fällen kann man zu schönen und deutlichen Farbentönen kommen, wenn man entweder nach Ablauf der Fermentreaktion vor dem Bromwasserzusatz in der angegebenen Weise (s. S. 424) mit kolloidalem Ferrihydroxyd klärt oder — einfacher und ohne jede Verdünnung — die seit langem bekannte[2]) Löslichkeit des Halogentryptophans in organischen Solvenzien benutzt. Besonders geeignet ist der Essigester, der das rötliche Halogenprodukt aus essigsaurer Lösung leicht aufnimmt. Die Nuance weicht von jener der wässerigen Lösung etwas ab, sie ist mehr himbeerfarben oder ähnelt der einer dünnen Methylviolettlösung; bei gehöriger Verdünnung des Essigätherauszugs, bei welcher die Färbung häufig

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 16; Deutsch. Arch. f. klin. Med. 97, 499, 1909.

[2]) Vgl. M. Nencki, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 28, 560, 1895; D. Kurajew, Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 501, 1899. — P. A. Levene und C. A. Rouiller, diese Zeitschr. 4, 322, 1907.

noch ausgesprochener wird, löst sich das im Grün vorhandene breite Absorptionsband in 2 Streifen auf, einen starken im beginnenden Grün und einen schwächeren mehr nach dem blauen Ende hin.

Die Nuancen sind bei Anwendung von Bromwasser und Chlorwasser (letzteres sehr einfach in Form einer filtrierten und dann mit Essigsäure angesäuerten Chlorkalklösung) allem Anscheine nach gleich, wie Kontrollen mit den reinen[1]) Chlor- und Bromkörpern zeigen.

Bildet sich beim Durchschütteln mit Essigester eine Suspension, so kann man diese durch gelindes Erwärmen des Reagenzglases über der Flamme oder durch Zusatz eines Tropfens Alkohols, der überhaupt den Übergang in Essigester fördert, oftmals auch einfach durch Wasserzugabe zum Verschwinden bringen.

Das Aufnehmen in Essigester bietet ferner den Vorzug, daß man das Halogentryptophan noch aus großen Verdünnungen in einer kleinen Zone Lösungsmittel sammeln und so Mengen nachweisen kann, die sich der direkten Beobachtung entziehen.

[1]) C. Neuberg und N. Popowsky, diese Zeitschr. 2, 357, 1907.

Zur Kenntnis der Fermentkonzentration des reinen Pankreassaftes.

Von

D. Hirata (Japan).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Kgl. Pathologischen Institutes der Universität Berlin.)

(*Eingegangen am 8. Februar 1910.*)

Durch die Arbeiten aus der Pawlowschen Schule an Hunden mit permanenter Pankreasfistel, wie durch die Beobachtungen an im übrigen gesunden Pankreasfistelmenschen — neben anderen Autoren hat jüngst J. Wohlgemuth[1]) gerade hierüber wichtige Mitteilungen gemacht — sind wir über die Fermentkonzentration des Pankreassaftes, der auf Nahrungsmittel im engeren Sinne, nämlich auf Fleisch, Brot, Milch usw. abgeschieden wird, ziemlich genau unterrichtet.

Ich führe kurz folgende Daten an. Auf Brot wird sehr viel Saft, auf Fleisch etwas weniger, auf Fett aber nur sehr wenig Saft sezerniert. (Pawlow, Wohlgemuth, l. c.) Die größte Fermentkonzentration läßt der Fettsaft erkennen, der quantitativ am spärlichsten produziert wird. Aber auch abgesehen von der Beziehung der Fermentkonzentration zur Saftmenge läßt sich wahrscheinlich auch noch eine Beziehung in der Menge der Art der zur Abscheidung kommenden Fermente zu dem Charakter der Nahrungsmittel konstruieren, die verdaut werden sollen.

Nun wird aber der Pankreassaft nicht allein nach der Gabe von Nahrungsmitteln im engeren Sinne sezerniert, sondern es erfolgt auch bekanntlich auf die Einverleibung verschiedener Medikamente per os und subcutan eine verschieden verlaufende Sekretion der Drüse. Bald handelt es sich um eine Anregung, bald um eine Hemmung der Sekretion, d. h. auf die verschiedenen Medikamente wird bald viel, bald wenig

[1]) Wohlgemuth, Untersuchung über das Pankreas des Menschen. Berl. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 2.

Saft sezerniert. So fand z. B. Bickel[1]), daß die Amara die Pankreassekretion steigern, daß ferner durch subcutane und intragastrale Einführung von Opium die Pankreassaftkonzentration herabgesetzt wird, während Morphium erst eine Herabsetzung, dann aber eine Steigerung macht.

Codein bewirkt nach noch nicht veröffentlichten Versuchen von Wacker aus unserem Laboratorium eine Hemmung der Pankreassekretion.

Herr Wacker hat mir freundlichst seine diesbezüglichen Versuchsprotokolle zur Veröffentlichung überlassen. Diese Versuche wurden an 2 Hunden mit permanenter Pankreasfistel angestellt.

Zeit	Milch, Salzsäure, Codein 25. Okt. 07
9^{35}	0,1 g Codein + 200 ccm Milch
9^{45}	0,00 ccm Pankreassaft
9^{45}	0,05 " "
10^{05}	0,00 " "
10^{15}	0,05 " "
10^{25}	0,05 " "
10^{35}	0,00 " "
10^{45}	0,05 " "
10^{55}	0,00 " "
11^{05} bis	0,00 " "
11^{50}	0.00 " "
11^{50}	200,00 " Salzs. 0,36 %ig
12^{00}	0,80 " " "
12^{10}	2,00 " " "
12^{20}	2,80 " " "
12^{40}	1,60 " " "
12^{50}	1,00 " " "
1^{00}	0,1 " Codein d. 2.
	1 " " phosph. 10 %ig
1^{10}	0,20 " " "
1^{20}	0,40 " " "
1^{40}	0,15 " " "
1^{40}	200,0 " Salzsäure
1^{50}	0,4 " "
2^{00}	0.20 " "
2^{10}	0,15 " "
2^{20}	0,10 " "
2^{30}	0,15 " "
2^{40}	0,80 " "
2^{50}	1,90 " "

Zeit	Milch, später Codein 24. Okt. 07
9^{35}	200,0 ccm Milch
9^{45}	0,5 " Pankreassaft
9^{55}	1,2 " "
10^{05}	1,2 " "
10^{15}	0,6 " "
10^{25}	0,2 " "
10^{35}	0.2 " "
10^{45}	0,1 " "
10^{55}	0,1 " "
11^{05}	0,1 " "
11^{15}	0,1 " "
11^{25}	1.2 " "
11^{35}	1,6 " "
11^{45}	1,6 " "
11^{55}	1,6 " "
12^{05}	0,8 " "
12^{15}	0,5 " "
12^{25}	1.2 " "
12^{35}	0,6 " "
12^{45}	1,4 " "
12^{55}	1,5 " "
1^{05}	1,2 " "
1^{10}	0,1 g Codein subcutan
1^{15}	0,8 ccm Pankreassaft
1^{25}	0,4 " "
1^{35}	0,00 " "
1^{45}	0,00 " "
1^{55}	0,00 " "

[1]) Bickel und Pincussohn, Über den Einfluß des Morphiums und Opiums auf die Magen- und Pankreassaftsekretion. Sitzungsber. d. kgl. preuß. Akad. d. Wissensch. 1907, 217 bis 223.

Pawlow (l. c.) fand bei Hunden eine Herabsetzung der Pankreassekretion durch Natrium bicarbonicum. Gottlieb[1]) stellte an Kaninchen fest, daß Atropin die Pankreassekretion unbeeinflußt läßt, Pawlow hingegen gibt an, daß Atropin beim Hunde eben diese Sekretion hemmt. Überhaupt scheint mir der Einfluß des Atropins auf diese Drüse noch nicht genügend geklärt. Lepage[2]) und Wertheimer schreiben: Das Atropin allein bewirkt doch oft eine Vermehrung der Pankreassaftabsonderung, die ebenso groß oder stärker als die durch Pilocarpin erzielte ist.

Auch die Pilocarpinwirkung scheint noch nicht ganz aufgeklärt. In meinen unten mitgeteilten Versuchen hemmte das Pilocarpin die Saftsekretion deutlich.

A. Bendicenti[3]) untersuchte die Wirkung von Jodkali, Salophen, Chinin auf Pankreas; man sieht aus allen diesen Literaturangaben, die auf Vollständigkeit keinen Anspruch machen, daß zur Pharmakologie des Pankreas bereits ein größeres Beobachtungsmaterial vorliegt.

In gewissem Sinne gehört zu diesem Thema auch die von Bayliss und Starling entdeckte Sekretinwirkung auf das Pankreas und last not least die Beobachtung Pawlows, daß die Salzsäure, sobald sie in das Duodenum gelangt, ein starker Erreger der Pankreasdrüse ist.

Von dieser Pawlowschen Beobachtung ging ich bei meinen eigenen Untersuchungen aus. Es hatte nämlich Ehrmann[4]) gefunden, daß die Salzsäure nur insofern ein Erreger des Pankreas ist, als die auf Salzsäure erfolgende Pankreassekretion vor allem die Drüse zu einer Abscheidung der wässerigen Bestandteile des Drüsenproduktes führt, während in nicht entsprechendem Maße die Fermente abgeschieden werden. Der Salzsäuresaft ist nach Ehrmann also im Gegensatz zu anderen Pankreassäften relativ fermentarm.

Diese Angabe wurde an folgendem Beispiele nachgeprüft. Ein Pankreasfistelhund erhielt 500 ccm $^{n}/_{10}$-HCl. Die Sektretion verlief wie folgt:

---

[1]) Gottlieb, Beiträge z. Physiol. u. Parmakol. der Pankreassekretion. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 33, 261.

[2]) Lepage, Über die Wirkung einiger Alkaloide auf die Pankreassaftabsonderung. Thèse de Lille 1904, 923.

[3]) A. Bendicenti, Beiträge z. Pharmakol. der Pankreassekretion. Giornale della R. Accademia di Medicina di Torino 67, 467 bis 475.

[4]) Ehrmann, Über die Wirkung der Salzsäure auf die Fermentsekretion des Magens und der Bauchspeicheldrüse. Berl. klin. Wochenschr. 45, 31, 1908.

1/4	Stunde	3,7	ccm	Saft
„	„	7,4	„	„
„	„	1,2	„	„
„	„	0,8	„	„

Danach bekam das Tier 50 ccm Panopepton, ein Präparat, das vorverdautes Fleisch und vorverdauten Weizen enthält. Von ihm ist bekannt, daß es eine lebhafte Magensaft- und damit Salzsäuresekretion macht.

Die Pankreassekretion verlief folgendermaßen:

1/4	Stunde	1,9	ccm	Saft
„	„	1,3	„	„
„	„	4,1	„	„
„	„	0,8	„	„

In dem Salzsäuresaft fand sich nach der Wohlgemuthschen Methode nur halb soviel Diastase wie im Panopeptonsaft.

Ein anderer Versuch an einem anderen Hunde verlief in gleicher Weise.

Das erstere Tier erhielt 50 ccm n/10-HCl.

1/2	Stunde	6,5	ccm	Saft
„	„	5,0	„	„
„	„	2,3	„	„

Danach Gabe von 50 ccm Panopepton:

1/2	Stunde	3,0	ccm	Saft
„	„	4,8	„	„
„	„	3,5	„	„
„	„	1,5	„	„

Hier enthielt der HCl-Saft halb soviel Diastase und Trypsin als der Panopeptonsaft — ersteres nach Wohlgemuth, letzteres nach Fuld bestimmt.

Wie groß die Magensaftsekretion auf Panopepton ist, geht z. B. aus folgendem Versuch hervor. Ein Pawlowscher Magenblindsackfistelhund erhielt per os 100 ccm Wasser. Die Sekretion verlief wie folgt:

1/2	Stunde	1,0	ccm	Saft
„	„	0,1	„	„
„	„	0,0	„	„

Nunmehr erhielt das Tier 50 ccm Panopepton + 50 ccm Wasser. Die Sekretion ist:

1/2	Stunde	3,0	ccm	Saft
„	„	4,0	„	„
„	„	0,1	„	„

Diese Beispiele zeigen, daß bei den Nahrungsmitteln die Größe des Fermentgehaltes des auf ihre Gabe sezernierten Pankreassaftes nicht allein davon abhängt, ob sie viel oder

wenig Magensaft und damit Salzsäure erzeugen, sondern daß wohl noch eine spezifische Reizung im Pawlowschen Sinne dazukommt. Eine solche spezifische Anregung der Fermentproduktion steht dem bei unseren Versuchen gewählten Panopepton zweifellos zu.

In analoger Weise konnte ich auch nach der Gabe von Fleischextrakt bei großer Quantität fermentreichen Pankreassaft beobachten.

Wie wir diese spezifische Wirkung zu erklären haben, ist schwer zu sagen. Denn wir wissen, daß z. B. die hier bei den Magenversuchen angewandten Präparate auf Magen und Pankreasdrüse sowohl bei oraler wie auch nach subcutaner Verabreichung wirken, und es muß überhaupt dahingestellt bleiben, ob die spezifische Anregung der Drüse zur Fermentbildung durch die Nahrung auf reflektorischem oder hämatogenem Wege oder auf beiden erfolgt.

Wenn man nun als Erreger der Pankreasdrüse Stoffe wählte, für deren Verarbeitung im Körper Fermente überhaupt keine Rolle spielen, wie z. B. Salze usw., so konnte man sehen, ob dann spezifische Beeinflussungen der Fermentbildung fehlen.

In der Tat stellte sich heraus, daß mit wenigen Ausnahmen der auf die orale Gabe eines solchen Stoffes sezernierte Pankreassaft um so fermentreicher war, je spärlicher er floß, um so fermentärmer, je reichlicher an Menge er sezerniert wurde.

Eine spärliche Pankreassekretion machte z. B. Natrium bicarbonicum, Calcium carbonicum, in meinen Versuchen auch Pilocarpin, eine starke Sekretion machte außer der Salzsäure z. B. pulverförmige essigsaure Tonerde.

Ich teile folgende Versuche mit; die Versuchsanordnung war derart, daß die Pankreasfistelhunde das betreffende Medikament allemal in 50 ccm Wasser gelöst durch die Sonde per os erhielten. Alsdann wurde die Sekretion beobachtet, der Saft gesammelt und in der gesamten Saftmenge der Diastasegehalt quantitativ bestimmt.

Die Bestimmung der diastatischen Kraft geschah mit der von Wohlgemuth[1]) angegebenen Methode.

[1]) Wohlgemuth, diese Zeitschr. 9, 1, 1909.

Versuche.

A. Geringe Saftmenge bei hoher Fermentkonzentration.

Natriumbicarbonat 1. Dez. 09	
9^{00}	0,3 ccm Pankreassaft
9^{10}	0,5 ccm Pankreassaft
9^{20}	5 g Natriumbicarbonat + 50 ccm Wasser
9^{30}	1,0 " "
9^{40}	0,8 " "
9^{50}	1,0 " "
10^{00}	0,5 " "
10^{10}	0,8 " "
10^{20}	0,5 " "
10^{30}	0,7 " "
10^{40}	0,6 " "
10^{50}	0,4 " "
11^{00}	0,3 " "
11^{10}	0,3 " "
11^{20}	0,0 " "
11^{30}	0,0 " "
	Gesamtmenge 6,9 ccm
	$D_{30'}^{38^0}$ 20000

Natriumbicarbonat 1. Dez. 09	
2^{10}	0,3 ccm Pankreassaft
2^{20}	0,0 ccm Pankreassaft
2^{30}	5 g Natriumbicarbonat + 50 ccm Wasser
2^{40}	1,2 " "
2^{50}	0,9 " "
3^{00}	1,0 " "
3^{10}	1,2 " "
3^{20}	1,0 " "
3^{40}	0,9 " "
3^{50}	0,9 " "
4^{00}	0,7 " "
4^{10}	0,9 " "
4^{20}	1,0 " "
4^{30}	0,6 " "
4^{40}	0,7 " "
4^{50}	0,6 " "
5^{00}	0,6 " "
5^{10}	0,4 " "
5^{20}	0,3 " "
5^{30}	0,0 " "
5^{40}	0,0 " "
	Gesamtmenge 12,9 ccm
	$D_{30'}^{38^0}$ 40000

Natriumbicarbonat 6. Dez. 09	
2^{30}	0,3 ccm Pankreassaft
2^{40}	0,0 ccm Pankreassaft
2^{50}	5 g Natriumbicarbonat + 50 ccm Wasser
3^{00}	0,6 " "
3^{10}	1,5 " "
3^{20}	2,5 " "
3^{30}	1.2 " "
3^{40}	0,8 " "
3^{50}	1,0 " "
4^{00}	1,0 " "
4^{10}	0,7 " "
4^{20}	0,4 " "
4^{30}	0,4 " "
4^{40}	0,3 " "
4^{50}	0,0 " "
5^{00}	0,0 " "
	Gesamtmenge 10,4 ccm
	$D_{30'}^{38^0}$ 40000

Natriumbicarbonat 30. Nov. 09	
2^{00}	0,4 ccm Pankreassaft
2^{10}	0,0 ccm Pankreassaft
2^{20}	5 g Natriumbicarbonat + 50 ccm Wasser
2^{30}	1,0 " "
2^{40}	1,0 " "
2^{50}	0,8 " "
3^{00}	0,8 " "
3^{10}	0,7 " "
3^{20}	0,5 " "
3^{30}	0,5 " "
3^{40}	0,4 " "
3^{50}	0,4 " "
4^{00}	0,3 " "
4^{10}	0,3 " "
4^{20}	0,0 " "
4^{30}	0,0 " "
	Gesamtmenge 6,7 ccm
	$D_{30'}^{38^0}$ 25000

Calciumcarbonat 2. Dez. 09	
9^{40}	0,5 ccm Pankreassaft
9^{50}	0,3 ccm Pankreassaft
10^{00}	2 g Calciumcarbonat + 50 ccm Wasser
10^{10}	0,8 " "
10^{20}	0,5 " "
10^{30}	0,3 " "
10^{40}	0,3 " "
10^{50}	0,3 " "
11^{00}	0,0 " "
11^{10}	0,0 " "
	Gesamtmenge 2,2 ccm
	$D_{30'}^{38^0}$ 20000

Calciumcarbonat 2. Dez. 09	
11^{50}	0,0 ccm Pankreassaft
12^{00}	0,0 ccm Pankreassaft
12^{10}	2 g Calciumcarbonat + 50 ccm Wasser
12^{20}	0,2 " "
12^{30}	0,3 " "
12^{40}	0,5 " "
12^{50}	0,4 " "
1^{00}	0,8 " "
1^{10}	0,3 " "
1^{20}	0,2 " "
1^{30}	0,0 " "
1^{40}	0,0 " "
	Gesamtmenge 2,7 ccm
	$D_{30'}^{38^0}$ 20000

Calciumcarbonat 2. Dez. 09	
2^{20}	0,3 ccm Pankreassaft
2^{30}	0,6 ccm Pankreassaft
2^{40}	2 g Calciumcarbonat + 50 ccm Wasser
2^{50}	1,0 " "
3^{00}	0,8 " "
3^{10}	0,6 " "
3^{20}	0,4 " "
3^{30}	0,4 " "
3^{40}	0,2 " "
3^{50}	0,0 " "
4^{00}	0,0 " "
	Gesamtmenge 3,4 ccm
	$D_{30'}^{38^0}$ 20000

Pilocarpin 2. Dez. 09	Pilocarpin 3. Dez. 09	Pilocarpin 5. Dez. 09
1^{10} 0,2 ccm Pankreassaft 1^{20} 0,0 ccm Pankreassaft 1^{30} 1 ‰ Pilocarpinlsg. 0,5 ccm subcutan 1^{40} 2,2 „ „ 1^{50} 0,8 „ „ 2^{00} 0,8 „ „ 2^{10} 0,6 „ „ 2^{20} 0,3 „ „ 2^{30} 0,3 „ „ 2^{40} 0,0 „ „ 2^{50} 0,0 „ „ } Gesamtmenge 5,0 ccm $D_{30'}^{38^\circ}$ 40000	4^{10} 0,5 ccm Pankreassaft 4^{20} 0,6 ccm Pankreassaft 4^{30} 1 ‰ Pilocarpinlsg. 0,5 ccm subcutan 4^{40} 1,2 „ „ 4^{50} 1,0 „ „ 5^{00} 0,5 „ „ 5^{10} 0,7 „ „ 5^{20} 0,5 „ „ 5^{30} 0,5 „ „ 5^{40} 0,5 „ „ 6^{00} 0,7 „ „ 6^{10} 0,5 „ „ 6^{20} 0,4 „ „ 6^{30} 0,4 „ „ 6^{40} 0,3 „ „ 6^{50} 0,0 „ „ 7^{00} 0,0 „ „ } Gesamtmenge 7,2 ccm $D_{30'}^{38^\circ}$ 160000	4^{50} 0,0 ccm Pankreassaft 5^{00} 0,0 ccm Pankreassaft 5^{10} 1 ‰ Pilocarpinlsg. 0,5 ccm subcutan 5^{20} 1,2 „ „ 5^{30} 0,6 „ „ 5^{40} 2,5 „ „ 5^{50} 0,7 „ „ 6^{00} 0,0 „ „ 6^{10} 0,0 „ „ } Gesamtmenge 5,0 ccm $D_{30'}^{38^\circ}$ 160000

B. Große Saftmenge bei geringer Fermentkonzentration.

Salzsäure 27. Nov. 09	Salzsäure 28. Nov. 09	Salzsäure 1. Dez. 09
9^{30} 0,0 ccm Pankreassaft 9^{40} 0,0 ccm Pankreassaft 9^{50} 50 ccm n/10-Salzsäure 10^{00} 0,5 „ „ 10^{10} 2,0 „ „ 10^{20} 0,8 „ „ 10^{30} 1,2 „ „ 10^{40} 1,5 „ „ 10^{50} 1,8 „ „ 11^{00} 1,5 „ „ 11^{10} 1,2 „ „ 11^{20} 1,0 „ „ 11^{30} 1,2 „ „ 11^{40} 0,5 „ „ 11^{50} 0,3 „ „ 12^{00} 0,5 „ „ 12^{10} 0,5 „ „ 12^{20} 0,3 „ „ 12^{30} 0,0 „ „ 12^{40} 0,0 „ „ } Gesamtmenge 14,8 ccm $D_{30'}^{38^\circ}$ 5000	10^{30} 0,0 ccm Pankreassaft 10^{40} 0,0 ccm Pankreassaft 11^{50} 50 ccm n/10-Salzsäure 12^{00} 1,4 „ „ 12^{10} 3,2 „ „ 12^{20} 2,4 „ „ 12^{30} 1,3 „ „ 12^{40} 1,1 „ „ 12^{50} 1,3 „ „ 1^{00} 0,7 „ „ 1^{10} 0,4 „ „ 1^{20} 1,0 „ „ 1^{30} 0,4 „ „ 1^{40} 0,3 „ „ 1^{50} 0,3 „ „ 2^{00} 0,0 „ „ 2^{10} 0,0 „ „ } Gesamtmenge 13,8 ccm $D_{30'}^{38^\circ}$ 5000	11^{10} 0,3 ccm Pankreassaft 11^{20} 0,0 ccm Pankreassaft 11^{30} 50 ccm n/10-Salzsäure 11^{40} 2,0 „ „ 11^{50} 5,4 „ „ 12^{00} 3,1 „ „ 12^{10} 1,7 „ „ 12^{20} 1,7 „ „ 12^{30} 1,5 „ „ 12^{40} 0,8 „ „ 12^{50} 0,8 „ „ 1^{00} 1,0 „ „ 1^{10} 0,8 „ „ 1^{20} 0,8 „ „ 1^{30} 1,2 „ „ 1^{40} 0,8 „ „ 1^{50} 0,6 „ „ 2^{00} 0,3 „ „ 2^{10} 0,3 „ „ 2^{20} 0,0 „ „ 2^{30} 0,0 „ „ } Gesamtmenge 22,8 ccm $D_{30'}^{38^\circ}$ 10000

Pulverförmige essigsaure Tonerde 26. Nov. 09	Pulverförmige essigsaure Tonerde 26. Nov. 09	Pulverförmige essigsaure Tonerde 30. Nov. 09	Pulverförmige essigsaure Tonerde 7. Dez. 09
1^{40} 0,0 ccm Pankreassaft	1^{20} 0,3 ccm Pankreassaft	9^{30} 0,3 ccm Pankreassaft	12^{40} 0,0 ccm Pankreassaft
1^{50} 0,0 ccm Pankreassaft	1^{30} 0,0 ccm Pankreassaft	9^{40} 0,2 ccm Pankreassaft	12^{50} 0,0 ccm Pankreassaft
2^{00} 1 g essigs. Tonerdepulver + 50 ccm Wasser	1^{40} 1 g essigs. Tonerdepulver + 50 ccm Wasser	9^{50} 1 g essigs. Tonerdepulver + 50 ccm Wasser	1^{00} 1 g essigs. Tonerdepulver + 50 ccm Wasser
2^{10} 1,0 „ „	1^{50} 2,5 „ „	10^{00} 2,0 „ „	1^{10} 2,0 „ „
2^{20} 2,2 „ „	2^{00} 1,5 „ „	10^{10} 1,5 „ „	1^{20} 2,1 „ „
2^{30} 1,7 „ „	2^{10} 1,4 „ „	10^{20} 1,7 „ „	1^{30} 1,8 „ „
2^{40} 1,5 „ „	2^{20} 1,8 „ „	10^{30} 1,7 „ „	1^{40} 2,0 „ „
2^{50} 3,0 „ „	2^{30} 1,2 „ „	10^{40} 1,5 „ „	1^{50} 3,0 „ „
3^{00} 2,3 „ „	2^{40} 1,2 „ „	10^{50} 1,5 „ „	2^{00} 2,0 „ „
3^{10} 3,8 „ „	2^{50} 1,5 „ „	11^{00} 1,5 „ „	2^{10} 3,0 „ „
3^{20} 2,5 „ „	3^{00} 1,0 „ „	11^{10} 2,5 „ „	2^{20} 2,2 „ „
3^{30} 3,0 „ „	3^{10} 1,0 „ „	11^{20} 1,5 „ „	2^{30} 2,2 „ „
3^{40} 4,0 „ „	3^{20} 1,2 „ „	11^{30} 1,0 „ „	2^{40} 1,8 „ „
3^{50} 2,2 „ „	3^{30} 0,5 „ „	11^{40} 0,3 „ „	2^{50} 1,8 „ „
4^{00} 2,8 „ „	3^{40} 0,4 „ „	11^{50} 0,5 „ „	3^{00} 1,7 „ „
4^{10} 3,5 „ „	3^{50} 0,3 „ „	12^{00} 0,3 „ „	3^{10} 1,0 „ „
4^{20} 1,8 „ „	4^{00} 0,4 „ „	12^{10} 0	3^{20} 0,8 „ „
4^{30} 1,2 „ „	4^{10} 0,0 „ „	12^{20} 0	3^{30} 0,6 „ „
4^{40} 0,6 „ „	4^{20} 0,0 „ „		3^{40} 0,4 „ „
4^{50} 0,3 „ „			3^{50} 0,3 „ „
5^{00} 0,3 „ „			4^{00} 0,0 „ „
5^{10} 0,0 „ „			4^{10} 0,0 „ „
5^{20} 0,0 „ „			
Gesamtmenge 37,7 ccm	Gesamtmenge 15,9 ccm	Gesamtmenge 17,5 ccm	Gesamtmenge 28,7 ccm
$D_{30'}^{38^\circ}$ 1250	$D_{30'}^{38^\circ}$ 1250	$D_{30'}^{38^\circ}$ 625	$D_{30'}^{38^\circ}$ 1250

Was nun nach **allen** in den Tab. S. 448 bis 452 wiedergegebenen Versuchen die Fermentkonzentration in den einzelnen Säften anbetrifft, so ergab sich, gemessen an dem diastatischen Ferment, daß in der Mehrzahl der Fälle die Fermentmenge um so geringer war, je größere Mengen Saft sezerniert wurden, und umgekehrt die Fermentmenge stieg, wenn die Saftmenge abnahm. Als Repräsentant der ersten Reihe kann der Versuch mit essigsaurer Tonerde, als der der zweiten Reihe der Versuch mit Natrium bicarbonicum gelten. Wie gesagt trifft diese Regel aber nicht für alle Fälle zu; so haben wir beispielsweise nach Magnesia Usta eine geringe Sekretion mit wenig Ferment in allen unsern Versuchen gesehen. Das beweist, daß die Pankreassekretion wohl im großen und ganzen den in dieser Arbeit formulierten Gesetzen folgt, daß aber der Mechanismus der Sekretion ein so kompliziertes System ist, daß es noch weiterer Untersuchungen bedürfen wird, um alle seine Einzelheiten aufzudecken.

C. Geringe und mittlere Saftmengen bei geringer Fermentkonzentration.

Acidum tannic. 4. Dez. 09	
2^{40}	0,0 ccm Pankreassaft
2^{50}	0,0 „ Pankreassaft
3^{00}	0,5 Acidum tannic. + 50 ccm Wasser
3^{10}	1,1 „ „
3^{20}	0,9 „ „
3^{30}	0,9 „ „
3^{40}	0,6 „ „
3^{50}	1,3 „ „
4^{00}	0,8 „ „
4^{10}	0,4 „ „
4^{20}	0,0 „ „
4^{30}	0,0 „ „
	Gesamtmenge 6,0 ccm
$D_{30'}^{38^0}$	5000

Acidum tannic.[1] 5. Dez. 09	
3^{40}	0,3 ccm Pankreassaft
3^{50}	0,3 „ Pankreassaft
4^{00}	0,5 Acidum tannic. + 50 ccm Wasser
4^{10}	0,3 „ „
4^{20}	0,8 „ „
4^{30}	2,5 „ „
4^{40}	2,8 „ „
4^{50}	2,5 „ „
5^{00}	2,0 „ „
5^{10}	2,0 „ „
5^{20}	2,2 „ „
5^{30}	2,2 „ „
5^{40}	3,0 „ „
5^{50}	3,0 „ „
6^{00}	3,5 „ „
6^{10}	1,0 „ „
6^{20}	0,4 „ „
6^{30}	0,0 „ „
6^{40}	0,0 „ „
	Gesamtmenge 28,2 ccm
$D_{30'}^{38^0}$	5000

Acidum tannic. 8. Dez. 09	
9^{30}	1,0 ccm Pankreassaft
9^{40}	1,0 „ Pankreassaft
9^{50}	0,5 Acidum tannic. + 50 ccm Wasser
10^{00}	1,2 „ „
10^{10}	0,8 „ „
10^{20}	0,5 „ „
10^{30}	1,0 „ „
10^{40}	1,0 „ „
10^{50}	0,2 „ „
11^{00}	0,2 „ „
11^{10}	0,0 „ „
11^{20}	0,0 „ „
	Gesamtmenge 4,9 ccm
$D_{30'}^{38^0}$	5000

Acidum tannic. 8. Dez. 09	
11^{10}	0,0 ccm Pankreassaft
11^{20}	0,0 ccm Pankreassaft
11^{30}	0,5 g Acidum tannic. + 50 ccm Wasser
11^{40}	0,4 „ „
11^{50}	0,3 „ „
12^{00}	0,2 „ „
12^{10}	0,7 „ „
12^{20}	0,5 „ „
12^{30}	0,4 „ „
12^{40}	0,0 „ „
12^{50}	2,2 „ „
1^{00}	1,5 „ „
1^{10}	0,8 „ „
1^{20}	0,8 „ „
1^{30}	0,5 „ „
1^{40}	0,0 „
1^{50}	0,0 „
	Gesamtmenge 8,3 ccm
$D_{30'}^{38^0}$	5000

Magnesia Usta 3. Dez. 09	
9^{40}	0,7 ccm Pankreassaft
9^{50}	0,6 ccm Pankreassaft
10^{00}	1,0 g Magnesia Usta + 50 ccm Wasser
10^{10}	0,8 „ „
10^{20}	0,8 „ „
10^{30}	1,0 „ „
10^{40}	0,5 „ „
10^{50}	0,3 „ „
11^{00}	0,5 „ „
11^{10}	0,3 „ „
11^{20}	0,3 „ „
11^{30}	0,0 „ „
11^{40}	0,0 „ „
	Gesamtmenge 4,5 ccm
$D_{30'}^{38^0}$	2500

Magnesia Usta 4. Dez. 09	
4^{40}	0,3 ccm Pankreassaft
4^{50}	0,6 ccm Pankreassaft
5^{00}	1,0 g Magnesia Usta + 50 ccm Wasser
5^{10}	1,7 „ „
5^{20}	0,6 „ „
5^{30}	1,0 „ „
5^{40}	0,8 „ „
5^{50}	0,5 „ „
6^{00}	0,3 „ „
6^{10}	0,3 „ „
6^{20}	0,3 „ „
6^{30}	0,0 „ „
6^{40}	0,0 „ „
	Gesamtmenge 5,5 ccm
$D_{30'}^{38^0}$	2500

Magnesia Usta 12. Dez. 09	
9^{40}	1,5 ccm Pankreassaft
9^{50}	1,2 ccm Pankreassaft
10^{00}	1,0 g Magnesia Usta + 50 ccm Wasser
10^{10}	1,0 „ „
10^{20}	0,5 „ „
10^{30}	0,4 „ „
10^{40}	0,3 „ „
10^{50}	0,2 „ „
11^{00}	0,0 „ „
11^{10}	0,0 „ „
	Gesamtmenge 2,4 ccm
$D_{30'}^{38^0}$	2500

[1] Bei diesem Versuch war das Tier nicht ganz nüchtern.

Pulvis Gentianae 11. Dez. 09

9^{40}	0,3 ccm Pankreassaft
9^{50}	0,2 ccm Pankreassaft
10^{00}	0,5 Pulvis Gentianae + 50 ccm Wasser
10^{10}	0,5 „ „
10^{20}	1,0 „ „
10^{30}	3,2 „ „
10^{40}	3,2 „ „
10^{50}	1,8 „ „
11^{00}	1,0 „ „
11^{10}	0,5 „ „
11^{20}	0,0 „ „
11^{30}	0,0 „ „

Gesamtmenge 11,2 ccm (10^{10}–11^{30})

$D_{30'}^{38^0}$ 2500

Pulvis Gentianae 11. Dez. 09

1^{40}	0,2 ccm Pankreassaft
1^{50}	0,2 ccm Pankreassaft
2^{00}	0,5 Pulvis Gentianae + 50 ccm Wasser
2^{10}	0,8 „ „
2^{20}	1,3 „ „
2^{30}	1,5 „ „
2^{40}	3,3 „ „
2^{50}	3,5 „ „
3^{00}	3,0 „ „
3^{10}	1,8 „ „
3^{20}	1,0 „ „
3^{30}	0,6 „ „
3^{40}	0,5 „ „
3^{50}	0,0 „ „
4^{00}	0,0 „ „

Gesamtmenge 17,3 ccm (2^{10}–4^{00})

$D_{30'}^{38^0}$ 2500

Pulvis Gentianae 13. Dez. 09

3^{20}	0,4 ccm Pankreassaft
3^{30}	0,4 ccm Pankreassaft
3^{40}	0,5 Pulvis Gentianae + 50 ccm Wasser
3^{50}	0,6 „ „
4^{00}	2,0 „ „
4^{10}	2,0 „ „
4^{20}	3,0 „ „
4^{30}	3,0 „ „
4^{40}	1,5 „ „
5^{00}	1,2 „ „
5^{10}	1,0 „ „
5^{20}	0,5 „ „
5^{30}	0,3 „ „
5^{40}	0,4 „ „
5^{50}	0,0 „ „
6^{00}	0,0 „ „

Gesamtmenge 15,3 ccm (3^{50}–6^{00})

$D_{30'}^{38^0}$ 2500

Kochsalz 4. Dez. 09

12^{40}	0,0 ccm Pankreassaft
12^{50}	0,0 „ „
1^{00}	1 g Kochsalz + 50 ccm Wasser
1^{10}	0,2 „ „
1^{20}	0,4 „ „
1^{30}	0,3 „ „
1^{40}	1,2 „ „
1^{50}	0,8 „ „
2^{00}	0,7 „ „
2^{10}	0,4 „ „
2^{20}	0,4 „ „
2^{30}	0,2 „ „
2^{40}	0,0 „ „
2^{50}	0,0 „ „

Gesamtmenge 4,6 ccm (1^{10}–2^{50})

$D_{30'}^{38^0}$ 2500

Kochsalz 7. Dez. 09

11^{30}	0,0 ccm Pankreassaft
11^{40}	0,0 „ „
11^{50}	1 g Kochsalz + 50 ccm Wasser
12^{00}	1,0 „ „
12^{10}	1,4 „ „
12^{20}	1,2 „ „
12^{30}	0,7 „ „
12^{40}	0,6 „ „
12^{50}	0,7 „ „
1^{00}	0,7 „ „
1^{10}	0,8 „ „
1^{20}	0,3 „ „
1^{30}	0,0 „ „
1^{40}	0,0 „ „

Gesamtmenge 7,4 ccm (12^{00}–1^{40})

$D_{30'}^{38^0}$ 2500

Über die Beeinflussung der Diffusionsvorgänge an frischen tierischen Darmmembranen.

Von

Ernst Mayerhofer und Ernst Přibram.

(Aus der Kinderabteilung des K. K. Kaiser-Franz-Joseph-Spitales und dem K. K. serotherapeutischen Institut in Wien.)

(Eingegangen am 11. Februar 1910.)

Mit 9 Figuren im Text.

Die wichtigste Funktion einer tierischen Membran besteht darin, daß sie, als trennende Schicht zwischen Lösungen verschiedenster Art und wechselnder Konzentration eingeschaltet, deren osmotische Beziehungen durch die ihr eigentümliche Kolloidnatur regelt. Die ungestörte normale Permeabilität der Membranen ist demnach eine der wichtigsten Grundlagen der normalen Lebensfunktionen, wie ja auch die dauernd veränderte Permeabilität pathologisch veränderten Stoffaustausch zur Folge hat.

Selbstverständlich ist es außerordentlich schwer, ja geradezu unmöglich, das osmotische Verhalten der einzelnen Zellmembran zu studieren; wir können nur einen Komplex vieler Membranen (Blase, Darmabschnitt), der jedoch durch sein makroskopisches Gefüge als einheitliche Membran höherer Ordnung zusammengefaßt ist, betrachten.

Eine derartige große Membran können wir nun unbeschadet ihrer mikroskopischen Struktur verschiedenen osmotischen Funktionsprüfungen unterziehen. Hierbei sind die erhaltenen Resultate gleichsam nur der summarische Ausdruck für eine Vielheit von Vorgängen, die sich durch ihre große Zahl und durch ihre Kleinheit einer speziellen Beobachtung entziehen; der so gewonnene, zahlenmäßig ausdrückbare Wert stellt sozusagen einen Indicator für den osmotischen Charakter der Gesamtmembran dar.

Wir haben bereits in zwei Arbeiten experimentell den Beweis erbracht, daß bei den verschiedensten Säugern (Meerschweinchen, Kaninchen, Hunden, Ziegen) wie auch beim Menschen der osmotische Charakter der Darmmembran durch die eingeführte Nahrung dauernd verändert werden kann. Die Ernährung mit arteigener Milch erhält den osmotischen Charakter der Darmmembran junger Tiere, während artfremde Ernährung anfänglich die Durchlässigkeit des Darmes stark erhöht; wenn das Tier dieses Anfangsstadium überwunden hat, und nun diese Ernährungskrankheit einen chronischen Verlauf nimmt, so erwirbt die Darmmembran einen erhöhten osmotischen Widerstand.

Ob tatsächlich der osmotische Austausch im Leben in der angedeuteten Weise vor sich geht, können und wollen wir einstweilen nicht behaupten.*) Wir betonen nur, daß unsere Be-

*) Reid[1]) zeigte, daß eine überlebende Dünndarmwand eine spezifische, von den osmotischen Kräften verschiedene Triebkraft besitzt. Er benützte eine Dünndarmwand eines während der Verdauung getöteten Kaninchens als Diaphragma in einem mit physiologischer Kochsalzlösung beschickten Gefäß, so daß zwei durch die Membran voneinander getrennte Flüssigkeitsanteile entstehen. Solange die Membran noch lebt, transportiert sie Kochsalzlösung von der Schleimhautfläche nach der Serosafläche. Diese Bewegung erlischt nach einiger Zeit. Noch viele andere Versuche [Cohnheim[2]), Kövesi[3]); Höber[4])] weisen darauf hin, daß im Leben in der Darmwand irgendeine ans Leben gebundene Triebkraft tätig ist, deren Natur und Quelle jedoch noch unerforscht ist. Bei Süßwassertieren, deren Körpersäfte konzentrierter sind als das umgebende Wasser, besteht die Osmoregulation in einer unbeschränkten Permeabilität für lipoidlösliche Körper und für Wasser bei gleichzeitiger Impermeabilität für lipoidunlösliche Stoffe. Das von der Haut daher fortwährend aufgenommene Wasser wird durch die kontinuierliche Nierenarbeit entfernt [Overton[5])]. Hierher gehören auch die Ausführungen Höbers über die Osmoregulation bei „homoiosmotischen" Meerestieren, deren Blut gegen das Meereswasser stark hypotonisch ist.

[1]) Reid, Report on experiments upon „absorption without osmosis" und „exp. upon intestinal abs. without osm". British med. Journ. 1, 323 und 1133, 1892.

[2]) Cohnheim, Die Umwandlung des Eiweißes durch die Darmwand. Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 9, 1901.

[3]) Kövesi, Beiträge zur Lehre von d. Resorption im Dünndarm. Centralbl. f. Physiol. 11, 553, 1897.

[4]) Höber, Über Resorption im Dünndarm. Pflügers Archiv 70, 624 und Physikal. Chemie der Zelle u. d. Gewebe, 2. Aufl., S. 339.

[5]) Overton, Verhdl. d. physiol.-med. Ges. zu Würzburg, N. F. 36, 277, 1904.

funde typisch und regelmäßig sind; die Frage, welche Folgen diese ermittelten Befunde im Leben hervorbringen können, kann erst nach Experimenten am lebenden Tiere erörtert werden. Die klinischen Befunde namhafter Autoren (Epstein, Groß-Epstein, Finkelstein, Ganghofner-Langer, L. F. Meyer usw.) bilden eine Ergänzung nach jener angedeuteten Richtung hin. Verschiedene, scheinbar sich widersprechende Befunde können durch unsere Resultate einheitlich und zwanglos erklärt werden.

Einstweilen aber stellt das Membranproblem *) bei der Enteritis an und für sich noch neue Fragen, die vorläufig physikalisch-chemisch beantwortet werden können. Wir stellten am Ende unserer vorläufigen Mitteilung in der Wiener klin. Wochenschr.**) die Vermutung auf, daß die postmortal nachweisbaren physikalischen Unterschiede der Darmmembranen auf Differenzen im Quellungszustande (akute Enteritis) und auf Unterschiede der Quellungsfähigkeit ***) (chronische Enteritis) beruhen; Quellungserscheinungen beherrschen ja hauptsächlich die Vorgänge in Kolloiden, gleichgültig ob sie nun gewöhnliche Hydrogele (Agar, Gelatine) oder ob sie hochorganisierte Plasmogele (Membranen des Tier- und Pflanzenkörpers) sind. Der Begriff der Quellung ist gegeben durch das Adsorptionsvermögen

*) Auf die große Bedeutung des Membranproblems für biologische Fragen hat zuerst Zangger[1]) mit Nachdruck hingewiesen und eine Reihe einschlägiger Fragen in seiner Monographie „Über Membranen und Membranfunktionen" zusammengefaßt.

**) Mayerhofer und Přibram, Das Verhalten der Darmwand als osmotische Membran bei akuter und chronischer Enteritis. Wiener klin. Wochenschr. 1909, Nr. 25 und: Zur Frage der Durchlässigkeit der Darmwand für Eiweißkörper, Toxine und Fermente. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 7, 1909.

***) Hofmeister[2]) sagt: „Ist ja doch der eigentlich resorbierende Apparat, das Darmepithel, mit Quellbarkeit ausgestattet. Dieses verhält sich sonach, wenn es mit einer Salzlösung benetzt wird, so wie ein quellbarer Körper, der in eine solche Lösung getaucht wird. Ein Unterschied ist nur darin gegeben, daß die Epithelzellen das aufgenommene Salz nicht einfach aufspeichern, sondern nach der anderen Seite an Lymphe und Blut abgeben. Es kann wohl sein, daß dieser Teil des Resorptionsvorganges vitaler Natur ist, für ausgemacht kann dies nicht gelten."

[1]) Zangger, Über Membranen und Membranfunktionen. Asher und Spiros Ergebn. d. Physiol. 7, 1908.

[2]) Hofmeister, Untersuchungen über Resorption u. Assimilation d. Nährstoffe. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 19 1, 1885; 20, 291, 1886; 27, 395, 1890.

seitens fester Kolloide für Flüssigkeiten. Für biologische Vorgänge kommt hauptsächlich Wasser als Quellungsmittel in Betracht. Hofmeister, dem wir grundlegende Untersuchungen über Begriff und Gesetze der Quellung verdanken, betont, daß bei osmotischen Vorgängen die Membran für die durchtretende Flüssigkeit quellbar sein müsse. Daher ist es einleuchtend, daß ein chronisch enteritischer Darm, der schon in bindegewebiger Atrophie begriffen ist, durch seinen Reichtum an Bindegewebe und infolge seiner geringen Quellbarkeit gelöste Stoffe viel schwerer durchtreten läßt als ein sukkulenter normaler oder gar als ein reichlich mit Flüssigkeit imbibierter, akut enteritischer Darm. Außerdem ist ja die innere Oberfläche eines chronisch enteritischen Darms stark verkleinert, welches Moment gleichfalls unter die physikalischen zu rechnen ist.

Wir versuchten nun, diese rein physikalischen Fragen experimentell zu lösen. Es gelang uns tatsächlich durch Veränderung des Wassergehaltes an ausgeschnittenen, ursprünglich gesunden Darmmembranen künstlich Zustände zu erzeugen, die denjenigen glichen, die wir an chronisch enteritischen Membranen postmortal erhoben hatten. Auch der entgegengesetzte Beweis gelang, da es möglich war, ursprünglich vorhanden gewesene Diffusionsunterschiede durch Wasserentzug außerhalb des Organismus auszugleichen.

Rein physiko-chemisch betrachtet ist die Darmmembran ein zweiphasiges System, nämlich Gel + Wasser. Je mehr in diesem Systeme das Wasser überwiegt, desto leichter können in einem derartigen System Diffusionsvorgänge vor sich gehen; wenn jedoch in diesem zweiphasigen System das Gel überwiegt, so wird hierdurch die Schnelligkeit des Diffusionsstromes für wasserlösliche Substanzen verzögert. Wir verweisen bei der Gelegenheit auf ganz ähnliche Versuche bei Gelatine und Agar.*) Auch sei hierbei an die Versuche Exners**) im Jahre 1867 über

*) Bechhold und Ziegler[1]) fanden, daß Gelatine und Agargallerte je nach ihrer Konzentration den Diffusionsweg von Elektrolyten und von Nichtelektrolyten ganz erheblich vermindern. Die Diffusionswege in nur 5%iger Gelatine sind in allen Fällen um ca. 60% größer als jene in 20%iger Gelatine.

**) A. Einstein[2]) kommt auf Grund molekularkinetischer Be-

[1]) Bechhold und Ziegler, Die Beeinflußbarkeit der Diffusion in Gallerten. Zeitschr. f. physikal. Chem. 56, 105.

[2]) Einstein, Zur Theorie der Brownschen Bewegung. Annal. d. Physik 19, 2, 1906.

die Brownsche Molekularbewegung in Flüssigkeiten verschiedener Viscosität erinnert, wobei unter anderem festgestellt wurde, daß die Viscosität des Mediums von wesentlichem Einfluß auf die zurückgelegten Wege der Teilchen ist.

Einfluß kurzdauernder Austrocknung auf die Permeabilität.

Um den Einfluß des Wassergehaltes des Darmes auf Diffusionen zu studieren, wählten wir vom Dünndarm eines Kaninchens je zwei gleich lange Stücke. Das eine Stück ließen wir aufgebläht $^{1}/_{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur austrocknen, während das andere Stück zwischen feuchter Watte aufbewahrt wurde. Nun füllten wir gleichzeitig das mäßig ausgetrocknete und das feucht gehaltene Darmstück mit der gleichen Menge einer $^{n}/_{1}$-Kaliumchloridlösung und bestimmten von Zeit zu Zeit die gegen je 50 ccm destilliertes Wasser diffundierten Salzmengen. Die folgende Tabelle gibt die Übersicht über die erhaltenen Zahlen.

Dünndärme gefüllt mit je 0,7 ccm $^{n}/_{1}$-KCl-Lösung, d. s. 0,0522 g KCl.

Getrockneter Darm				Zeit in Min.	Feuchtgehaltener Darm			
$^{n}/_{10}$-$AgNO_3$	KCl	Diffundierte Menge in Prozenten des			$^{n}/_{10}$-$AgNO_3$	KCl	Diffundierte Menge in Prozenten des	
ccm	g	Gesamtinhalts	jeweiligen Inhalts		ccm	g	Gesamtinhalts	jeweiligen Inhalts
1,1	0,0082	15,71	15,71	5	1,4	0,0104	19,92	19,92
0,9	0,0067	12,84	15,23	5	1,0	0,0075	14,37	17,94
0,9	0,0067	22.80	17,98	5	1,0	0,0075	25,67	21,87
1,6	0,0119	22,80	38,89	15	1 8	0,0134	25.67	44,44
2,0	0,0149	28,54	51,92	40	1,9	0,0142	27,20	100
							d. i. beendete Diffusion	

Daß die ausgetrocknete Membran viel weniger diffundieren läßt als die feuchtgehaltene, wird noch übersichtlicher durch die dazugehörige Kurve (s. S. 458) dargestellt.

Einen gleichen Versuch an zwei benachbarten Dickdarmstücken eines noch in der Entwicklung befindlichen Kaninchens ergab dasselbe Resultat. Der Kürze halber seien diesmal nur die Mengen an verbrauchter $^{n}/_{10}$-Silbernitratlösung mitgeteilt; beide Darmabschnitte wurden mit je 3 ccm $^{n}/_{1}$-Kochsalzlösung beschickt.

---

trachtungen für die Weglänge $= \lambda_x$ (als x-Koordinaten berechnet) während der Zeit t zu folgendem Ausdruck:

$$\lambda_x = \sqrt{t} \times \sqrt{\frac{R \cdot T}{N} \times \frac{1}{3 \pi k P}}$$

wobei $N =$ die Zahl der Moleküle in einem Gramm-Molekül, $T =$ die absolute Temperatur, $k =$ den Reibungskoeffizient der Flüssigkeit, $P =$ Kugelradius der einzelnen Teilchen und $R =$ die Gaskonstante bedeutet. Nach dieser einfachen Formel ist also der Weg eines in Brownscher Molekularbewegung befindlichen Körpers direkt proportional der Temperatur und unter anderem verkehrt proportional der inneren Reibung der Flüssigkeit.

Feuchtgehaltener Dickdarmabschnitt	Zeit in Min.	Durch $^3/_4$ Std. bei Zimmertemperatur ausgetrockneter Dickdarmabschnitt
$^n/_{10}$-$AgNO_3$ in ccm		$^n/_{10}$-$AgNO_3$ in ccm
2,3	5	2,1
1,6	5	1,4
1,1	5	1,0
0,9	5	0,8
1,9	15	1,7
2,6	30	2,5

Es gelingt auf diese Weise nicht nur, wie in den eben erwähnten Versuchen, willkürlich durch Wasserentziehung einen ähnlichen Zustand der erschwerten osmotischen Permeabilität zu erzeugen, wie er von uns als regelmäßiger Sektionsbefund bei der chronischen Enteritis erhoben wurde, sondern es gelingt auch leicht, auf diese Weise die Unterschiede in der Permeabilität des gesunden und akut enteritischen Darms auszugleichen und sogar zu überkompensieren. Hier ein Beispiel:

Kurve 1.

Probetitration ausgeführt an Dünndärmen, mit je 1,3 ccm $^n/_1$-NaCl-Lösung gefüllt; Außenflüssigkeit je 50 ccm.

Zeitdauer der Diffusionen	Tier I, 5 Tage alt, bei der Mutter, gesund, gute Gewichtszunahme; 100 g schwer				Tier II, 5 Tage alt, künstlich mit Kuhmilch ernährt, krank, Gewichtsabnahme; 86 g schwer				Tier III, 5 Tage alt, künstlich mit Kuhmilch ernährt, stärker krank wie II, Gewichtsabn.; 80 g schwer			
	I. Gesunder Dünndarm				II. Akut kranker Dünndarm				III. Akut kranker Dünndarm			
	$^n/_{20}$-$AgNO_3$	NaCl	Diffundierte Menge in Prozenten des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in Prozenten des jeweiligen Inhalts	$^n/_{20}$-$AgNO_3$	NaCl	Diffundierte Menge in Prozenten des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in Prozenten des jeweiligen Inhalts	$^n/_{20}$-$AgNO_3$	NaCl	Diffundierte Menge in Prozenten des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in Prozenten des jeweiligen Inhalts
Min.	ccm	g			ccm	g			ccm	g		
5	5,1	0,0149	19,58	19,58	6,3	0,0184	24,18	24,18	7,2	0,0211	27,74	27,74
5	4,0	0,0117	15,38	19,12	3,8	0,0111	14,60	19,23	4,0	0,0117	15,38	21,28
10	5,9	0,0173	22,75	34,95	5,2	0,0152	19,99	32,62	5,4	0,0158	20,88	36,49
20	5,8	0,0170	22,35	52,80	5,4	0,0158	20,88	50,32	4,7	0,0137	18,01	49,82

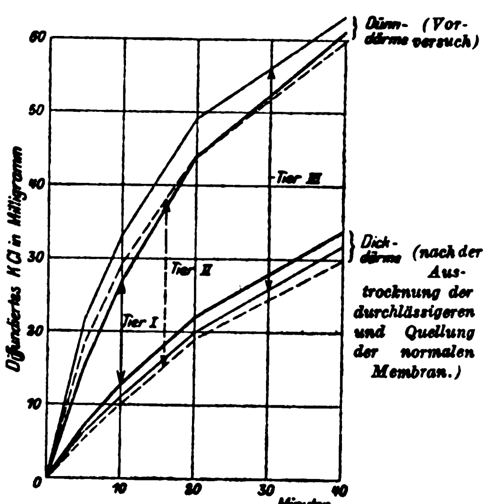
Zuckerdiffusion, ausgeführt an den drei Coeca derselben Tiere; Füllung mit je 4,4 ccm einer 32%igen Dextroselösung, die gegen je 20 ccm destilliertes Wasser in osmotischen Austausch gebracht wurde.

Zeitdauer der Diffusion	Tier I, gesund	Tier II, akut krank	Tier III, akut krank
Min.	Prozentgehalt von Dextrose der Außenflüssigkeit	Prozentgehalt von Dextrose der Außenflüssigkeit	Prozentgehalt von Dextrose der Außenflüssigkeit
30	0,8	1,2	1,1
30	0,6	1,1	1,1

Titration, ausgeführt an den gequollenen resp. getrockneten Dickdärmen; gefüllt mit je 1 ccm n/1-NaCl-Lösung; Außenflüssigkeit je 50 ccm destilliertes Wasser.

Zeitdauer der Diffusionen	Tier I, gesunder Dickdarm, 1 Std. in feuchter Watte gelegen				Tier II, akut kranker Dickdarm, 1 Std. bei Zimmertemperatur getrocknet				Tier III, akut kranker Dickdarm, 1 Std. bei Zimmertemperatur getrocknet			
	n/20-AgNO₃	NaCl	Diffundierte Menge in Prozenten des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in Prozenten des jeweiligen Inhalts	n/20-AgNO₃	NaCl	Diffundierte Menge in Prozenten des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in Prozenten des jeweiligen Inhalts	n/20-AgNO₃	NaCl	Diffundierte Menge in Prozenten des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in Prozenten des jeweiligen Inhalts
Min.	ccm	g			ccm	g			ccm	g		
5	2,4	0,0070	11,96	11,96	1,7	0,0050	8,54	8,54	2,1	0,0061	10,42	10,42
5	1,9	0,0055	9,40	10,68	1,8	0,0053	9,06	9,90	1,9	0,0055	9,40	10,49
10	3,1	0,0091	15,55	19,78	3,0	0,0088	15,04	18,26	3,1	0,0091	15,55	19,40
20	4,1	0,0119	20,34	32,25	3,8	0,0111	18,97	28,17	4,0	0,0117	20,00	30,95

Aus den vorausgeschickten Tabellen geht hervor, daß Tier Nr. I, geprüft an der Salz- und Zuckerdiffusion als gesundes, natürlich ernährtes, eine geringere Anfangsosmose besitzt als die akut enteritischen Tiere desselben Wurfes (Nr. II und III). Diese Verhältnisse sind in der nebenstehenden Kurve durch die oberen Linien dargestellt (Dünndärme). Durch gelindes Austrocknen der durchlässigeren kranken Därme



Kurve 2. Darstellend die Umkehrung der Anfangsosmose durch Austrocknung und Quellung.

bei gleichzeitiger Quellung der ursprünglich weniger durchlässigen gesunden Darmmembran kann man die Verhältnisse ins Gegenteil verkehren, womit bewiesen erscheint, daß die ungestörte resp. die erhöhte oder verminderte Permeabilität der Darmmembran eine Funktion ihres Wassergehaltes ist.

Selbstverständlich darf man auch erwarten, daß ein ähnlicher Versuch, ausgeführt an chronisch kranken und gesunden Kontrolltieren, nicht zu demselben Effekt des Ausgleiches resp. schon gar nicht zur Überkompensation führen wird, da nach unseren Ansichten die chronisch kranke Darmmembran der Quellbarkeit großenteils beraubt ist.

Von einem Kaninchenpaar, 50 Tage alt, desselben Wurfes blieb das eine bei der Mutter, das andere wurde vom 16. Lebenstag an künstlich mit Kuhmilch ernährt und bot an seinem 50. Lebenstage die uns bekannte osmotische Widerstandsvermehrung seiner Darmwand. Die Probetitration ergab folgende Werte:

Gesundes Duodenum mit 5 ccm $^n/_1$-KCl gefüllt				Zeit der Diffusionen in Min.	Chronisch krankes Duodenum mit 5 ccm $^n/_1$-KCl gefüllt			
$^n/_{10}$-$AgNO_3$ ccm	KCl g	Diffundierte Menge in Prozenten des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in Prozenten des jeweiligen Inhalts		$^n/_{10}$-$AgNO_3$ ccm	KCl g	Diffundierte Menge in Prozenten des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in Prozenten des jeweiligen Inhalts
2,8	0,0209	5,60	5,60	5	1,9	0,0142	3,81	3,81
3,3	0,0246	6,59	6,98	5	2,3	0,0172	4,61	4,79
2,8	0,0209	5,60	6,35	5	2,6	0,0194	5,20	5,68
5,1	0,0380	10,19	12,40	10	4,4	0,0328	8,79	10,18
5,8	0,0433	11,61	16,12	15	5,6	0,0418	11,21	14,44
8,1	0,0604	16,19	26,81	30	8,2	0,0612	16,41	24,72
9,7	0,0723	19,38	43,85	60	10,4	0,0775	20,78	41,58

Außerdem wurde der osmotische Charakter dieser Därme noch durch zwei Diffusionsversuche mittels Ammoniumchlorid und einer Lösung von Na_3PO_4 (1 ccm = 0,0208 g Na_3PO_4) an zwei anderen Stücken festgestellt, wobei ganz ähnliche Verhältnisse konstatiert wurden, wie sie die obige Tabelle darstellt. Von diesem durch 3 Probetitrationen mittels verschiedener Salze charakterisierten Darmrohr wurde ein 21 cm langes Dünndarmstück des gesunden Tieres ca. 1 Stunde bei Zimmertemperatur trocknen gelassen, während das entsprechende, chronisch kranke Stück in feuchter Watte der Quellung ausgesetzt blieb. Wie wenig die chronisch kranke Darmmembran sich mit Wasser imbibierte, zeigen schon die Werte an verbrauchter Silbernitratlösung.

Gesunder Dünndarm, getrocknet, mit 5 ccm $^n/_1$-NH_4Cl gefüllt	Zeit in Min.	Chronisch kranker Dünndarm feucht gehalten, mit 5 ccm $^n/_1$-NH_4Cl gefüllt
Verbrauchtes $^n/_{10}$-$AgNO_3$ ccm		Verbrauchtes $^n/_{10}$-$AgNO_3$ ccm
4,2	5	2,9
4,3	5	3,8
4,0	5	3,2
6,5	10	6,6
6,9	15	6,4
25,9 Summe		22,9 Summe

Die Wasserentziehung durch Austrocknen darf in den früher beschriebenen Versuchen nicht übertrieben werden, denn wird der Darm ganz trocken, so wird er, nachträglich in wässeriger Lösung suspendiert, viel durchlässiger als zuvor, sei es durch rasche Maceration im Wasser während des Versuches, sei es durch Veränderung seines Eiweißes. Ein lange (12 bis 48 Stunden) getrockneter Darm imbibiert sich außerordentlich schnell mit Wasser und wird infolgedessen sehr stark durchlässig für wasserlösliche Stoffe.

Einfluß langdauernder Austrocknung auf die Permeabilität.

Von den Coeca von zwei 7 Tagen alten, gesunden Meerschweinchen desselben Wurfes wurde das eine sofort nach dem Tode auf seine Permeabilität mittels einer Menge von 4 ccm $^n/_1$-NH_4Cl untersucht. Durch vergleichende Probetitrationen an anderen Abschnitten wurde inzwischen festgestellt, daß die Permeabilität der Darmwand dieser zwei gesunden Tiere von gleicher Größe war.

Das zweite Coecum setzten wir durch 24 Stunden in aufgeblähtem Zustande der Exsiccation bei Zimmertemperatur aus. Nach der Beschickung dieses stark getrockneten Darmabschnittes mit derselben Menge einer $^n/_1$-Ammoniumchloridlösung ergaben sich wesentlich höhere Diffusionswerte, wovon schon die Tabelle der verbrauchten $^n/_{20}$-$AgNO_3$-Lösung einen guten Begriff gibt.

Gesundes Coecum, sofort titriert	Zeitdauer der Diffusionen	Gesundes Coecum nach 48stündiger Exsiccation titriert
Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter $^n/_{20}$-$AgNO_3$	Minuten	Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter $^n/_{20}$-$AgNO_3$
8,1	5	12,2
6,9	5	8,8
6,15	5	9,4
10,05	10	10,6

Zur Erhärtung dieser Tatsache wurde noch ein 2. Versuch ausgeführt mit der Modifikation, daß das Coecum eines Kaninchens sofort nach dem Tode verarbeitet wurde. Nach dieser ersten Probetitration wurde der Darm entleert, sorgfältig salzfrei gewaschen und durch 24 Stunden bei Zimmertemperatur in aufgeblähtem Zustande der Eintrocknung ausgesetzt. Die folgende Tabelle stimmt mit der obenstehenden darin überein, daß der durch brüske Exsiccation geschädigte Darm eine stark erhöhte Permeabilität aufweist.

Coecum von einem 20 Tage alten, natürlich genährten Kaninchen; gefüllt beide Male mit 10 ccm $^{n}/_{1}$-NH_4Cl.

Dasselbe Coecum, sofort titriert	Zeitdauer der Diffusionen	Dasselbe Coecum, nach der ersten Titration chlorfrei gewaschen und 24 Stunden getrocknet, dann wieder titriert
Verbrauchte Kubikzentimeter $^{n}/_{10}$-$AgNO_3$	Minuten	Verbrauchte Kubikzentimeter $^{n}/_{10}$-$AgNO_3$
2,5	5	6,1
1,8	5	5,0
1,7	5	5,0
1,6	5	4,9
3,2	15	12,1

Diese zwei Austrocknungsversuche bilden den Übergang zu den nun folgenden, in denen wir in ähnlicher Weise wie durch schonenden physikalischen Wasserentzug durch chemische, mehr oder weniger entwässernde Mittel die Aufgabe zu lösen trachteten, die gefundenen charakteristischen Unterschiede der Darmmembranen auszugleichen. Durch die brüske Exsiccation wird die kolloidchemische Struktur der Darmmembran dauernd und irreparabel geändert, ganz ähnlich, wie chemische Mittel durch Eiweißfällungen, Bildung von Adsorptionsverbindungen, Änderungen der Löslichkeitsbedingungen für Wasser usw. eine noch stärkere Veränderung in kolloidalen Membranen hervorrufen. Durch Alkohol, Tannin, Äther werden vorhandene pathologische Permeabilitätsdifferenzen oft verblüffend exakt ausgeglichen bei kolossaler Steigerung der Anfangsosmose, ganz ähnlich wie in dem Versuch der brüsken Exsiccation.

Der folgende Versuch wurde in der Weise angestellt, daß je ein Darmabschnitt eines gesunden und eines akut enteritischen Meerschweinchens auf die osmotische Permeabilität geprüft, dann in 95 %igen Alkohol eingelegt (24 Std.) und abermals untersucht wurde:

1. Vorprobe:

Obere Dünndärme gefüllt mit je 1 ccm $^n/_1$-KCl-Lösung, d. s. 0,0746 g KCl.

Gesundes Tier I					Akut*) erkranktes Tier II			
$^n/_{10}$-$AgNO_3$ ccm	KCl g	Diffundierte Menge in Prozenten des Gesamt-Inhalts	Diffundierte Menge in Prozenten des jeweiligen Inhalts	Zeit in Minuten	$^n/_{10}$-$AgNO_3$ ccm	KCl g	Diffundierte Menge in Prozenten des Gesamt-Inhalts	Diffundierte Menge in Prozenten des jeweiligen Inhalts
2,2	0,0164	21,98	21,98	5	2,5	0,0187	25,06	25,06
1,8	0,0134	17,96	23,02	5	2,2	0,0164	21,98	29,34
1,2	0,0090	12,17	20,09	5	1,6	0,0119	16,32	34,50
1,7	0,0127	17,02	35,48	10	1,8	0,0134	17,96	48,55
2,6	0,0209	28,02	90,48	40	2,3	0,0172	23,06	100,00 d. i. beendete Diffusion

Die Kurve 3 (s. S. 464) gibt ein Bild von dem osmotischen Charakter dieser Darmmembran.

2. Nach 24 Std. langer Behandlung mit 95 %igem Alkohol:

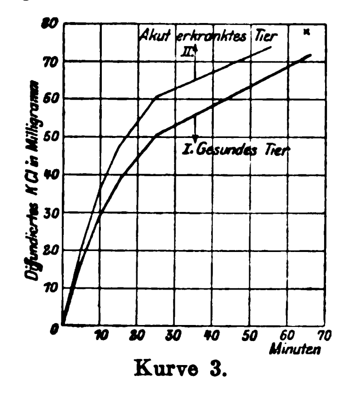
Dünndärme gefüllt mit je 0,7 ccm $^n/_1$-KCl-Lösung, d. s. 0,0522 g KCl.

Ursprünglich gesunder Darm in ca. 95 %igem Alkohol					Ursprünglich akut enteritischer Darm in ca. 95 %igem Alkohol			
$^n/_{10}$-$AgNO_3$ ccm	KCl g	Diffundierte Menge in Prozenten des Gesamt-Inhalts	Diffundierte Menge in Prozenten des jeweiligen Inhalts	Zeit in Minuten	$^n/_{10}$-$AgNO_3$ ccm	KCl g	Diffundierte Menge in Prozenten des Gesamt-Inhalts	Diffundierte Menge in Prozenten des jeweiligen Inhalts
3,5	0,0261	50,00	50,00	5	3,3	0,0246	47,13	47,13
1,5	0,0112	21,46	42,91	5	1,5	0,0112	21,46	40,58
1,0	0,0075	14,37	50,34	13	1,0	0,0075	14,37	45,73
0,4	0,0030	5,47	40,55	60	0,4	0,0030	5,47	33,70

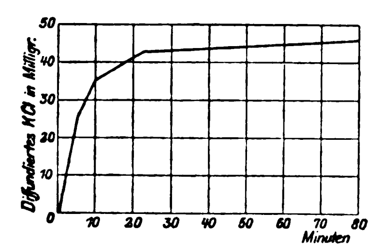
Diese erhöhte Permeabilität des akut enteritischen Darmes kann nun durch Behandlung mit Alkohol zum Verschwinden gebracht werden, wie aus den Kurven 4 und 5 (s. S. 464) hervorgeht; allerdings ersehen wir aus beiden Kurven eine sehr starke Erhöhung der initialen Osmose, für die wir heute noch keinen exakten Grund angeben können.

*) Die akute Erkrankung dieses Tieres ergab sich aus den in unseren früheren Arbeiten beschriebenen Symptomen, vor allem aus der unregelmäßigen Gewichtszunahmen und dem Zurückbleiben des Gewichtes dieses Tieres, 101 g gegen 170 g des Gesunden, sowie aus dem Sektionsbefund.

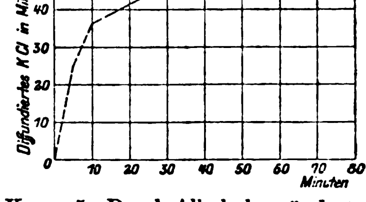
Wenn man denselben Versuch statt mit 95°/₀igem Alkohol mit Äther wiederholt, so stellt sich heraus, daß kurzdauerndes Einlegen (24 Std.) der Därme in Äther, wobei der Äther nicht gewechselt wird, den Charakter der Kurven nicht wesentlich zu verändern vermag; denn Äther nimmt nur sehr wenig Wasser auf (2 Volumprozent bei 12°). Die untenstehende Kurve 6 unterscheidet sich in bezug auf die Differenzen in der Osmose gar nicht von der ersten, den osmotischen Charakter der unbehandelten Membranen beschreibenden Kurve. Keinesfalls aber wird durch diese kurzdauernde Ätherbehandlung die gesteigerte Permeabilität des akut enteritischen Darmes ins Gegenteil verkehrt, wie wir dies durch 95°/₀igen Alkohol erzielen konnten.



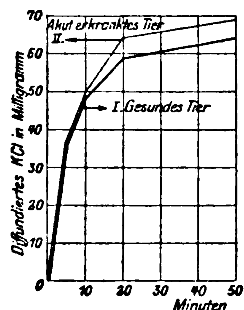
Kurve 3.



Kurve 4. Durch Alkohol veränderte, ursprünglich gesunde Darmmembran. (Kurve 3; I.)



Kurve 5. Durch Alkohol veränderte, ursprünglich akut kranke Darmmembran. (Kurve 3; II.)



Kurve 6. 24stündige Ausätherung.

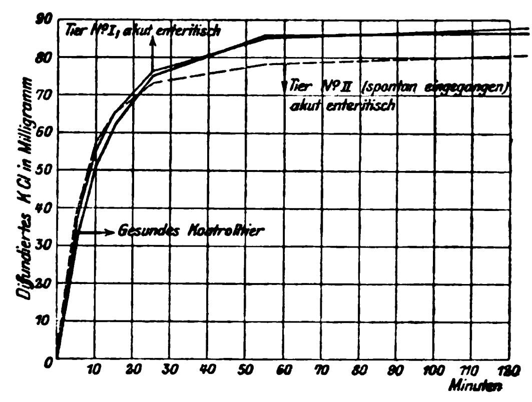
Nur durch lange dauerndes Ausäthern, wobei die Flüssigkeit oft abgegossen und erneuert werden muß, ist es möglich, Wasserentzug in dem Ausmaße zu erzielen, daß hierdurch der ursprüngliche Kurvencharakter geändert wird. Wir wählten diesmal 3 Meerschweinchen vom selben Wurf; zwei davon erhielten Kuhmilch, das dritte blieb bei der Mutter.

Die Gewichte dieser 3 Tiere waren folgende:

Datum	Lebens-tag	Gewicht des gesunden Tieres g	Gewicht des kranken Tieres (Nr. I) g	Gewicht des schwerer kranken Tieres (Nr. II) g
1909				
3.VI.	1.	80	80	80
4. „	2.	90	90	90
5. „	3.	100	82	84
6. „	4.	110	78	73
7. „	5.	120	74½	72
8. „	6.	125	74½	75
9. „	7.	—	—	—
10. „	8.	140	78	72
11. „	9.	145	80	76
12. „	10.	145	85	77
				ging spontan ein

Der osmotische Charakter wurde diesesmal im Vorversuch nicht durch Kaliumchlorid ermittelt, sondern durch Diffusion einer schwachen Lösung von Na_3PO_4 (1 ccm der Lösung enthielt 0,0208 Na_3PO_4); titriert wurde mit Uranylacetat unter Benutzung von Cochenilletinktur als Indicator. Diese geänderte Versuchsanordnung zeigte ebenfalls prompt die erhöhte osmotische Durchlässigkeit des akut enteritischen Darmes an. Die Osmose betrug in der 1. Stunde beim gesunden Darm 61,02 % gegen 76,28 % beim akut erkrankten Tiere II (spontan eingegangen), welcher Unterschied auch bei den folgenden Titrationen blieb. Das kranke Tier I konnte im Vorversuche wegen Abgleitens einer Ligatur nicht untersucht werden.

Daß der Charakter der Kurven dieses Mal nach der einmonatlichen Ausätherung ein anderer ist als bei der nur 24stündigen Ausätherung, beweisen die untenstehenden Kurven.



Kurve 7. Einmonatliches Ausäthern dreier Därme bei oftmaliger Erneuerung des Äthers.

Die Zahlenwerte für diese Kurven folgen hier:

Dickdärme vom Coecum abwärts; gefüllt mit 1,5 ccm $^{n}/_{1}$-KCl-Lösung, d. s. 0,1119 g KCl.

Ursprünglich gesunder Darm; einen Monat lang ausgeäthert				Darm des kranken Tieres Nr. I; einen Monat lang ausgeäthert				Darm des stärker kranken Tieres Nr. II; Nr. II spontan eingegangen. Darm einen Monat lang ausgeäthert				
$^{n}/_{10}$-$AgNO_3$	KCl	Diffundierte Menge in Prozenten des		$^{n}/_{10}$-$AgNO_3$	KCl	Diffundierte Menge in Prozenten des		$^{n}/_{10}$-$AgNO_3$	KCl	Diffundierte Menge in Prozenten des		Zeit in Minuten
ccm	g	Gesamtinhalts	jeweiligen Inhalts	ccm	g	Gesamtinhalts	jeweiligen Inhalts	ccm	g	Gesamtinhalts	jeweiligen Inhalts	
4,4	0,0328	29,31	29,31	4,9	0,0366	32,70	32,70	5,0	0,0370	33,07	33,07	5
2,4	0,0179	16,00	22,63	2,4	0,0179	16,00	23,77	2,4	0,0179	16,00	23,90	5
1,6	0,0119	10,63	19,44	1,6	0,0119	10,63	20,73	1,3	0,0097	8,66	17,02	5
1,7	0,0127	11,35	25,76	1,5	0,0112	10,01	24,61	1,1	0,0082	7,32	17,33	10
1,4	0,0104	9,29	28,69	1,1	0,0082	7,32	23,90	0,6	0,0045	4,02	11,51	30
0,1	0,0007	6,25	2,67	0,4	0,0030	2,68	11,49	0,4	0,0030	2,68	8,67	70

Noch besser als durch Alkohol oder durch lange andauerndes Ausäthern lassen sich die Permeabilitätsunterschiede kranker und gesunder Därme durch Einlegen in wässerige Tanninlösungen aufheben.

Bevor wir das Versuchsresultat bringen, müssen wir einiges über das verwendete Verfahren der Tanninbehandlung („Gerbung") erwähnen. Während wir bei der Entwässerung durch Alkohol und Äther einen wenigstens teilweise reversibeln Prozeß vor uns haben, wird durch den Prozeß der Tanninbehandlung ein in seinem Endzustande vollkommen irreversibler Zustand erzeugt, also mit anderen Worten: die Quellbarkeit des Gewebes dauernd aufgehoben. Der Grund für diese Erscheinung liegt darin, daß Tannin (Digallussäure) mit Wasser eine kolloidale Lösung bildet [Paternò[1])], was z. B. daraus hervorgeht, daß die Zahlen des Molekulargewichts in wässeriger Lösung zwischen 2643 und 3700 schwanken, während in Eisessig das normale Molekulargewicht (322) gefunden wird. Es handelt sich hierbei um eine allgemeine Eigenschaft der Gerbstoffe (animalischer, mineralischer und vegetabilischer), Hydrosole zu bilden. Die tierische Membran nun nimmt als Hydrogel die kolloidal gelösten

[1]) Paternò, Über das Verhalten der Kolloidsubstanzen gegen das Raoultsche Gesetz. Gaz. chim. ital. 19, 684, 1880. (Ref. Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloide 1, 54, 1906.)

Gerbstoffe (Hydrosole) viel gieriger auf als z. B. Krystalloide*) oder auch als Gerbstoffe**) in krystalloider Modifikation. Der absorbierte Gerbstoff wird unter der Mitwirkung der Faser (Haut) sekundär verändert, wobei er unlöslich wird. Hierdurch wird der Prozeß des Gerbens irreversibel. Nach der allgemeinen Annahme ist diese Irreversibilität bedingt durch Zustandsänderungen des absorbierten Sols zu Gel. Diese moderne Theorie des Gerbvorganges müssen wir im Auge behalten, wenn wir dem hier angeführten Versuche die richtige Deutung geben wollen. [Edm. Stiasny[1]); Arthur Müller[2]).]

Wir wählten Därme des Tierpaares vom 30. Mai bis 6. Juni 1909; desselben, das wir bereits oben bei den Versuchen mit Alkoholbehandlung gewählt hatten. Die hierzu gehörige charakterisierende Kurve ist die Kurve Nr. 3. Nr. I bezieht sich auf das gesunde, Nr. II auf das akut erkrankte Tier.

Obere Dickdärme, gefüllt mit je 2 ccm $^n/_1$-KCl-Lösung, d. s. 0,1492 g KCl.

Ursprünglich gesunder Darm nach Gerbung in 7%iger wässeriger Lösung				Zeit in Min.	Ursprünglich akut enteritischer Darm nach Gerbung in 7%iger wässeriger Lösung			
$^n/_{10}$-$AgNO_3$ ccm	KCl g	Diffundierte Menge in Prozenten des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in Prozenten des jeweiligen Inhalts		$^n/_{10}$-$AgNO_3$ ccm	KCl g	Diffundierte Menge in Prozenten des Gesamtinhalts	Diffundierte Menge in Prozenten des jeweiligen Inhalts
2,4	0,0179	12,00	12,00	5	2,4	0,0179	12,00	12,00
1,8	0,0134	8,98	10,21	5	1,8	0,0134	8,98	10,21
2,7	0,0201	13,47	17,05	10	2,8	0,0209	14,01	17,78
6,0	0,0448	30,03	45,80	35	5,9	0,0440	29,49	45,36
2,5	0,0187	12,53	35,2	30	2,3	0,0172	11,53	32,45

*) Vgl. Mylius und Groschuff[3]); die krystalloide α-Form der Kieselsäure ist nicht imstande, Leim- oder Eiweißlösungen zu fällen; die kolloidale β-Form jedoch fällt Leim und Eiweiß; Absorptionsversuche der Haut mit ca. 2%igen Lösungen von α- und β-Kieselsäure zeigten, daß die kolloidale Form beiläufig achtmal reichlicher aufgenommen wird als die krystalloide.

**) Nach Wislicenus[4]) adsorbiert Tonerde aus einer wässerigen (kolloidalen) Tanninlösung 78%, aus der essigsauren (krystalloiden) Lösung nur 32% des vorhandenen Tannins; ein ähnlicher Versuch mit dem Quebrachogerbstoff ergab nach Körner (Ledermarkt, Collegium 1908, 163) in essigsaurer Lösung Adsorptionswerte von 53% gegen 99% in der kolloidalen wässerigen Lösung.

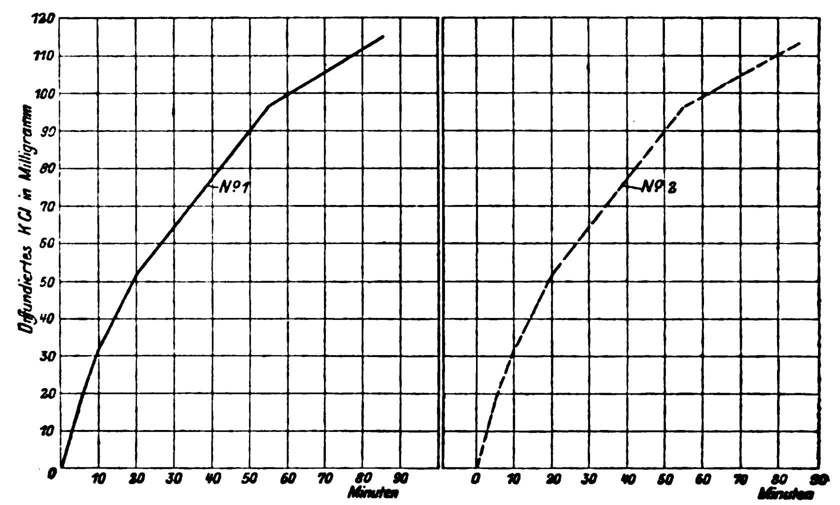
[1]) Stiasny, Beziehungen der Gerberei zur Kolloidchemie. Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloide 2, 257, 1908. (Das. ausführl. Literatur!)

[2]) A. Müller, Allgemeine Chemie der Kolloide. Handb. d. angewandt. physikal. Chemie, 1907.

[3]) Mylius und Groschuff, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1905, Nr. 16.

[4]) Wislicenus, Über die faserähnlich gewachsene Tonerde und ihre Oberflächenwirkungen. (Adsorption.) Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloide, Suppl. 1, 8, 1908.

Wenn man die ursprünglichen Zahlen und Kurven (Nr. 2) I und II mit den bei diesem Versuche erhaltenen vergleicht, so findet man nach der Gerbung, abgesehen von Versuchsfehlern, eine geradezu verblüffende Übereinstimmung im Gegensatz zu den differenten Kurven vor der Gerbung.



Kurve 8. Ursprünglich gesund. Darm; in 7%iger wässeriger Tanninlösung 24 Stunden gelegen; entspricht der Linie I auf Kurve 3.

Kurve 9. Ursprünglich akut enteritischer Darm; in 7%iger wässeriger Tanninlösung 24 Stunden gelegen; entspricht der Linie II auf Kurve 3.

Aus den angestellten Untersuchungen geht hervor, daß Änderungen des kolloidalen Zustandes der Darmmembran eine große Rolle für die Permeabilität spielen, und daß die rein physikalischen Prozesse an der Darmmembran des Studiums wert sind, besonders mit Rücksicht auf die Adsorptionserscheinungen, die ja von jeher an den Kolloidstoffen beobachtet worden sind. Vielleicht sind gerade die Adsorptionsvorgänge geeignet, je nach dem Charakter der eingeführten Nahrung die Darmwand zu einem Sitz verschiedenartiger Kräfte zu gestalten (Fermente nach Escherich). Auch muß erwähnt werden, daß es Adsorptionen negativer Art gibt, d. h. es nimmt ein Kolloid in einem kolloidalen Medium nicht nur kein gelöstes Kolloid auf, sondern Wasser, wodurch es quillt. Durch derlei negative Adsorptionsvorgänge jedoch wird die Permeabilität erhöht, da sie mit steigendem Wassergehalt zunimmt. Ob es für die junge menschliche Darmmembran gleichgültig ist,

ob das von ihr bis zu einem Gleichgewichtszustande adsorbierte und durch sekundäre Vorgänge auch teilweise festgehaltene Eiweiß (analog den Adsorptionsverbindungen van Bemmelens beim Gerben und Färben) ein arteigenes oder ein artfremdes ist, kann selbstverständlich von uns einstweilen nicht behauptet werden, wenngleich zugegeben werden muß, daß man in dieser Richtung Stützen für eine derartige Theorie finden könnte.

Zusammenfassung.

1. Die Permeabilität der Darmmembran ist unter anderem eine Funktion ihres Wassergehaltes. Je mehr das Wasser in dem zweiphasigen System Plasmogel + Wasser überwiegt, desto durchlässiger ist die Darmmembran für wasserlösliche Stoffe.

2. Bei willkürlicher Variation des Wassergehaltes können außerhalb des Organismus an ursprünglich gesunden Darmmembranen zwei fundamental voneinander verschiedene Zustände erzeugt werden; durch künstliche Quellung wird eine erhöhte Permeabilität verursacht (entsprechend der akuten Enteritis), durch künstliche Entquellung eine verminderte Permeabilität (entsprechend der chronischen Enteritis).

3. Je quellfähiger eine Darmmembran ist, desto leichter gelingt die physikalische Überführung des einen Permeabilitätszustandes in den anderen.

4. Eine einmal im Organismus der Quellfähigkeit beraubte Darmmembram (chronischeEnteritis durch bindegewebige Atrophie) kann außerhalb des Organismus nur sehr schwer durch Wasseraufnahme rücksichtlich ihrer Permeabilität verändert werden.

5. Auch durch wasserentziehende Mittel (Alkohol, oft gewechselter trockener Äther, Tannin) können die Permeabilitätsdifferenzen, die zwischen der akut und der chronisch erkrankten Darmmembran bestehen, ausgeglichen werden.

6. Ein schonender physikalischer Wasserentzug verändert an dem ausgeschnittenen Darm nur die Neigung der Permeabilitätskurve zur Abszisse, nicht aber ihren Charakter; ein brüsker physikalischer Wasserentzug erhöht stark die Permeabilität und bildet den Übergang zu dem das Eiweiß verändernden Wasserentzug durch chemische Mittel, die den Charakter der Permeabilitätskurve durch Erhöhung der Anfangsosmose verändern.

Zur Biologie der Phagocyten. VI.

Wirkung von Erdalkalisalzen auf die Phagocytose (Ca, Ba, Sr, Mg).

Von

H. J. Hamburger und J. de Haan.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Groningen.)

(Eingegangen am 16. Februar 1910.)

Die bei Hinzufügung von Spuren Calcium beobachtete bedeutende Steigerung der Phagocytose,[1]) ließ es erwünscht erscheinen, den Grund dieses merkwürdigen Phänomens näher zu untersuchen, um so mehr, weil auch auf andere Gewebe, insbesondere auf den Herzmuskel ein gleichartiger Einfluß des Calciums bekannt wurde.[2]) Indessen schien es empfehlenswert, sich für ein eingehenderes Studium dieser Angelegenheit zunächst zu den Phagocyten zu wenden, weil es sich hier um isolierte Zellen handelt, wo die Verhältnisse so viel einfacher liegen als beim Herzen.

So haben wir uns denn in erster Linie die Frage vorgelegt, ob auch die anderen Erdalkali-Ionen eine Beschleunigung der Phagocytose herbeiführen. Damit bezweckten wir die Frage zu beantworten, ob die Wirkung des Ca zurückzuführen war auf eine der Zweiwertigkeit des Kations entsprechende bedeutende elektrische Ladung oder ob das Kation Ca hier eine spezifische Wirkung ausübt, die anderen bivalenten Kationen derselben Gruppe abgeht. Das Versuchsverfahren war dasselbe, das in der V. Mitteilung beschrieben wurde.

---

[1]) Hamburger und Hekma, Zur Biologie der Phagocyten. III. Diese Zeitschr. 9, 275, 1908.

[2]) Man denke insbesondere an die Arbeiten von Sidney Ringer, Journ. of Physiol. 3, 180; 4, 29; 8, 15. — Howell, American Journ. of Physiol. 6, 181, 1901. — Langendorff und Hueck, Pflügers Archiv 96, 473, 1903.

1. Vergleichung des Einflusses von Barium und Calcium.

Es wurden drei Flüssigkeiten angefertigt:

NaCl-Lösung 0,9%,

NaCl-Lösung 0,9%, in der 0,05% $CaCl_2$ aufgelöst war,

NaCl-Lösung 0,9%, in der 0,11% $BaCl_2$ 2 aq aufgelöst war (isosmotisch mit 0,05% $CaCl_2$).

Einwirkungsdauer 2 Stunden.

Die Resultate sind in der folgenden Tabelle verzeichnet.

Einfluß von Barium und Calcium.

Flüssigkeit	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
NaCl 0,9%	$\frac{58}{234} \times 100 = 24{,}8\%$ $\frac{54}{229} \times 100 = 23{,}4\%$
NaCl 0,9% + 0,11% $BaCl_2$ 2 aq.	$\frac{68}{270} \times 100 = 25{,}1\%$ $\frac{69}{279} \times 100 = 24{,}7\%$
NaCl 0,9% + 0,05% $CaCl_2$	$\frac{192}{377} \times 100 = 50{,}9\%$

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor, daß **Barium keinen nachweisbar befördernden Einfluß auf die Phagocytose ausübt**, Calcium dagegen einen sehr erheblichen.

Dieses Resultat wird noch bestätigt an denselben Leukocyten, nachdem dieselben während 24 Stunden sich selbst in einer 0,9%igen NaCl-Lösung überlassen gewesen sind. Nachher wird eine abgemessene Menge in eine frische Lösung von NaCl 0,9%, in NaCl 0,9% + 0,11% $BaCl_2$ und in NaCl 0,9% + 0,05% $CaCl_2$ gebracht.

Einfluß von Barium und Calcium.

Flüssigkeit	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
NaCl 0,9%	$\frac{15}{473} \times 100 = 3{,}2\%$
NaCl 0,9% + 0,11% $BaCl_2$	$\frac{16}{453} \times 100 = 3{,}5\%$
NaCl 0,9% + 0,05% $CaCl_2$	$\frac{113}{216} \times 100 = 52{,}3\%$

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die durch längeren Aufenthalt in 0,9% NaCl **fast vollständig gelähmten Phagocyten durch Barium keine Wiederbelebung erfahren, eine sehr kräftige Wiederbelebung dagegen durch die isosmotische Calciummenge.**

2. Vergleichung des Einflusses von Strontium und Calcium.

Wie verhält sich nun das Strontium? Es wurde hier in derselben Weise verfahren wie beim Barium. Die folgende Tabelle wird also ohne weitere Erklärung deutlich sein. Nur sei bemerkt, daß gleich wie im vorigen Versuch, die Leukocyten 24 Stunden in 0,9% NaCl gelegen hatten.

Einfluß von Strontium und Calcium.

Flüssigkeit	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
NaCl 0,9%	$\frac{9}{437} \times 100 = 2{,}1\%$
NaCl 0,9% + 0,06% $SrCl_2$ 6 aq.	$\frac{28}{448} \times 100 = 6{,}2\%$
NaCl 0,9% + 0,12% $SrCl_2$ 6 aq. (isosm. mit 0,05% $CaCl_2$)	$\frac{6}{153} \times 100 = 4\%$
NaCl 0,9% + 0,05% $CaCl_2$	$\frac{98}{199} \times 100 = 49{,}2\%$

Auch hier wieder unterscheidet sich das Calcium durch die kräftige Belebung der Phagocytose, während das Strontium in dieser Hinsicht nur sehr wenig aktiv ist.

Eine Wiederholung des Versuches mit dem Blut eines anderen Tieres gibt dasselbe Resultat. Auch hier wieder sind die Leukocyten 24 Stunden mit 0,9% NaCl in Berührung gewesen.

Einfluß von Strontium und Calcium.

Flüssigkeit	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
NaCl 0,9%	$\frac{5}{509} \times 100 = 1\%$
NaCl 0,9% + 0,06% $SrCl_2$ 6 aq.	$\frac{9}{473} \times 100 = 2\%$
NaCl 0,9% + 12% $SrCl_2$ 6 aq. (isosm. mit 0,05% $CaCl_2$)	$\frac{3}{278} \times 100 = 1\%$
NaCl 0,9% + 0,05% $CaCl_2$	$\frac{71}{318} \times 100 = 22{,}3\%$

Es unterliegt also keinem Zweifel, daß unter den Metallen Ba, Sr und Ca, das Ca nicht als zweiwertiges Kation wirkt, also z. B. durch dessen elektrische Ladung, sondern als Kation von einer spezifisch chemischen Eigenschaft.

Dieses Resultat ließ sich nicht voraussagen. Denn es sind Tatsachen bekannt geworden, nach denen dem Ba und Sr dieselben biologischen Eigenschaften zukommen wie dem Ca. So fand J. Loeb[1]), daß das isolierte Zentrum von Polyorchis (eine Meduse), das in einer Zuckerlösung oder in Seewasser nicht klopft, zum Schlagen zu bringen ist, nicht nur durch Zugabe von Ca, sondern auch von Strontium- und Ba-Ionen; nicht aber durch Mg-Ionen. Nach J. B. Mac Callum[2]) ist Ca imstande, die Hämolyse durch Saponin zu hemmen, Ba und Sr tun das gleiche, nur in geringerem Grade. Erwähnt sei noch, daß nach Loeb die cytolytische Wirkung einer alkalischen reinen Chlornatriumlösung gegenüber Seeigeleiern nicht nur durch Zusatz geringer Calciummengen, sondern auch, und zwar in gleicher Intensität, durch Zusatz entsprechender Bariummengen aufgehoben wird.[3])

Was hier also für die antihämolytische Wirkung von Erdalkaliionen auf die roten Blutkörperchen und für die Anticytolyse von Eiern gilt, läßt sich nicht ohne weiteres auf das phagocytäre Vermögen von Leukocyten übertragen.

3. Einfluß des Magnesiums.

Endlich haben wir auch noch das Magnesium in den Kreis unserer Betrachtungen aufzunehmen. Es sind bereits interessante Tatsachen über die Wirkung des Magnesiums bekannt geworden.

Zuweilen zeigt das Magnesium dieselbe Wirkung wie das Calcium, zuweilen auch die umgekehrte. So fand J. B. Mac Callum, daß beide die hämolytische Wirkung von Saponin hemmen.[4]) Dagegen fand J. Loeb, daß gegenüber den Schwimmbewegungen von Polyorchis die beiden Metalle einen anta-

---

[1]) J. Loeb, Journ. of Biolog. Chem. 1, 427, 1906.

[2]) J. B. Mac Callum, University of California Publications. Physiology 2, 93, 1905.

[3]) J. Loeb, diese Zeitschr. 5, 351, 1907.

[4]) J. B. Mac Callum l. c.

gonistischen Einfluß ausüben. Durch Mg-Ionen werden die Bewegungen gefördert, durch Ca-Ionen gehemmt. Der durch Mg hervorgerufene fördernde Einfluß kann durch Hinzufügung einer äquivalenten Ca-Menge aufgehoben werden.[1])

Die folgende Tabelle wird ohne weitere Erklärung deutlich sein.

Einfluß von Magnesium und Calcium.

Flüssigkeit	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
NaCl 0,9%	$\frac{275}{629} \times 100 = 43{,}7\%$
NaCl 0,9% + 0,05% $MgCl_2$	$\frac{342}{621} \times 100 = 55\%$
NaCl 0,9% + 0,05% $CaCl_2$	$\frac{440}{635} \times 100 = 69{,}3\%$

Aus diesen Resultaten geht hervor, daß Hinzufügen von Magnesium zu der NaCl-Lösung die Phagocytose in kräftigem Maße befördert hat, obgleich nicht in so erheblichem Grade wie Calcium.

Der Versuch wird mit denselben Leukocyten wiederholt, nachdem dieselben während 24 Stunden als Serum-Citrat-Suspension aufbewahrt gewesen sind.

Flüssigkeit	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
NaCl 0,9%	$\frac{1}{529} \times 100 = 0{,}2\%$
NaCl 0,9% + 0,05% $MgCl_2$	$\frac{8}{807} \times 100 = 2{,}2\%$
NaCl 0,9% + 0,05% $CaCl_2$	$\frac{261}{532} \times 100 = 49\%$

Man sieht, daß nach 24stündiger Einwirkung des Serum-Citrats das phagocytäre Vermögen in 0,9% NaCl fast auf Null gesunken ist, und daß weiteres Hinzufügen von Mg wieder einige Belebung bringt. Der günstige Einfluß von $CaCl_2$ ist aber erheblich größer.

Auffallend ist es auch, daß in 0,9% NaCl die Leukocyten gut isoliert lagen, aber dort, wo zu der NaCl-Lösung $MgCl_2$ hinzugesetzt war, zusammenklebten. Im allgemeinen, auch bei

[1]) J. Loeb, l. c.

anderen Gelegenheiten, stellte es sich heraus, daß Mg das Zusammenkleben befördert.

Die folgende Tabelle gibt eine Wiederholung des vorigen Versuches, jedoch mit der Hälfte des Magnesiums.

Einfluß von Magnesium und Calcium.

Flüssigkeit	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
NaCl 0,9 %	$\frac{2}{276} \times 100 = 0{,}8\,\%$
NaCl 0,9 % + 0,025 % $MgCl_2$	$\frac{5}{280} \times 100 = 2\,\%$
NaCl 0,9 % + 0,05 % $CaCl_2$	$\frac{272}{545} \times 100 = 50\,\%$

Aus dieser Tabelle erhellt, daß das Magnesium in sehr geringer Menge (0,025 % $MgCl_2$) die in einer 0,9 %igen NaCl-Lösung zeitlich gelähmte Phagocytose ein wenig hebt. Dessen Einfluß steht jedoch dem des Calciums gegenüber sehr weit zurück.

Jetzt wird die $MgCl_2$-Menge wieder auf 0,05 % zurückgebracht.

Es werden Versuche mit einer NaCl-Lösung kurz nach der Blutentnahme und etwa 24 Stunden nachher angestellt.

Einfluß von Magnesium und Calcium.

Flüssigkeit	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
NaCl 0,9 %	$\frac{198}{446} \times 100 = 44{,}4\,\%$ (am Tag der Blutentlastung)
NaCl 0,9 %	$\frac{26}{447} \times 100 = 5{,}8\,\%$ (nach 24stündigem Aufenthalt in NaCl 0,9 %)
NaCl 0,9 % + $MgCl_2$ 0,05 %	$\frac{202}{616} \times 100 = 32{,}7\,\%$ (nach 24stündigem Aufenthalt in NaCl 0,9 %)
NaCl 0,9 % + $CaCl_2$ 0,05 %	$\frac{359}{705} \times 100 = 50{,}8\,\%$ (nach 24stündigem Aufenthalt in NaCl 0,9 %)

Aus dieser Tabelle ersieht man, daß die durch längeren Aufenthalt in 0,9 %iger NaCl-Lösung fast gelähmte Phago-

cytose durch Hinzufügen von 0,05 % $MgCl_2$ wieder gehoben wird. Den ursprünglichen Wert (44,4 %) erreicht sie dadurch aber nicht. Wohl ist das aber der Fall, wenn 0,05 % $CaCl_2$ hinzugefügt wird. Dann steigt das phagocytäre Vermögen sogar über den ursprünglichen Wert hinaus.

Zieht man aus den angeführten Versuchen mit Mg das Fazit, so ist man, wie wir glauben, berechtigt zu schließen, daß die Anwesenheit von diesem Kation in der die Phagocyten umgebenden Flüssigkeit auf deren Aufnahmefähigkeit für Kohle nützlich wirkt, nicht aber in dem Maße, wie es Ca tut, das das normale phagocytäre Vermögen steigert, sondern dadurch, daß dort, wo durch Abwesenheit von Mg in der umgebenden Flüssigkeit die normale Phagocytose abgenommen hat, das Hinzufügen dieses Ions dieselbe, jedenfalls teilweise wiederherstellt.

Daß bei Anwesenheit der normalen Magnesiummenge in der umgebenden Flüssigkeit weiterer Zusatz von Magnesium die Phagocytose nicht steigert, geht aus folgender Versuchsreihe hervor, in der zum Serum Mg hinzugefügt wurde. Diese Versuchsreihe wurde früher von Dr. E. Hekma ausgeführt und ist damals nicht veröffentlicht worden. Es sei hier bemerkt, daß damals die Leukocyten nicht aus Citrat-Plasma, sondern aus defibriniertem Blute gesammelt wurden.

Zusatz von Mg-Ionen zum Serum.

	Prozentgehalt der Leukocyten, die Kohle aufgenommen haben
Suspension von Leukocyten in Serum	$\frac{258}{590} \times 100 = 43{,}7\%$
„ „ „ „ „ +0,01% $MgCl_2$	$\frac{299}{682} \times 100 = 43{,}8\%$
„ „ „ „ „ +0,025% „	$\frac{268}{610} \times 100 = 43{,}9\%$
„ „ „ „ „ +0,05% „	$\frac{340}{788} \times 100 = 43{,}1\%$
„ „ „ „ „ +0,1% „	$\frac{286}{672} \times 100 = 42{,}5\%$
„ „ „ „ „ +0,25% „	$\frac{300}{700} \times 100 = 42{,}8\%$
„ „ „ „ „ +0,5% „	$\frac{269}{752} \times 100 = 36\%$

Man sieht, daß das Hinzufügen von Mg zum Serum keinen fördernden Einfluß auf die Phagocytose ausübt. Bei Zugabe von 0,5% wird sogar ein nachteiliger Einfluß konstatiert. Aber dieser wird wohl hauptsächlich einer Wasserentziehung zuzuschreiben sein.[1])

Zusammenfassung.

Das Hauptergebnis der beschriebenen Versuche läßt sich folgenderweise zusammenfassen:

1. Im Gegensatz zum Calcium können Barium und Strontium weder das normale phagocytäre Vermögen steigern, noch ein gelähmtes phagocytäres Vermögen wieder beleben.

2. Diese beiden Eigenschaften besitzt auch das Magnesium nicht. Nur zeigt sich die Wirkung des Mg von der des Ba und Sr insoweit verschieden, daß, wenn die Phagocyten durch Aufenthalt in einer reinen Salzlösung, z. B. in reiner 0,9%iger Kochsalzlösung, einen Teil des phagocytären Vermögens eingebüßt haben, sie denselben durch Zusatz geringer Mg-Mengen wieder zurückgewinnen.

Hier dokumentiert sich das Mg einfach als ein natürlicher Bestandteil der Phagocyten, der durch Ba und Sr nicht zu ersetzen ist.

3. Nach alledem ist die merkwürdige, durch Ca herbeigeführte kräftige und weit über das Normale hinausgehende Erhebung des phagocytären Vermögens **nicht in der elektrischen Ladung, die dem Ca als zweiwertigem Ion zukommt, begründet. Es handelt sich hier vielmehr um eine besondere, spezifische Eigenschaft dieses Elementes.**

Die Analyse dieser Eigenschaft wird Gegenstand weiterer Mitteilungen sein.

---

[1]) Vgl. Hamburger und Hekma, diese Zeitschr. 7, 102, 1907.

Über die Blutgerinnung bei Wirbellosen.

Von

Leo Loeb.

(Aus dem Laboratorium für experimentelle Pathologie der University of Pennsylvania und aus dem Marine Biological Laboratory, Woods Holl, Mass.)

(*Eingegangen am 17. Februar 1910.*)

Im folgenden soll über einige weitere Beobachtungen über die Blutgerinnung bei Arthropoden berichtet und zugleich sollen einige Ergebnisse meiner in früheren Jahren angestellten Untersuchungen über die Blutgerinnung bei Wirbellosen kurz besprochen werden, besonders mit Rücksicht auf eine kürzlich erschienene Mitteilung von P. Nolf[1]), in der dieser Autor meine tatsächlichen Ergebnisse auch an anderen Tierspezies der Hauptsache nach bestätigte, soweit seine Nachprüfung sich erstreckte, und auch theoretisch teilweise zu ähnlichen Schlußfolgerungen kam, in anderen wichtigen Punkten aber in seiner Erklärungsweise von mir abwich.

Über die sogenannte erste Gerinnung des Blutes der Wirbellosen.

Bei vielen Wirbellosen findet sich an Stelle der Blutgerinnung lediglich eine Agglutination der Blutzellen; bei gewissen Arthropoden schließt sich an diese Bildung des „Zellfibrins" eine Gerinnung des Plasmas an. Ich untersuchte insbesondere die Bildung des Zellfibrins bei Limulus und kam zu dem Schlusse, daß dieser Agglutinationsprozeß nicht auf einer Ausscheidung von echtem Fibrin beruht, sondern einen von der

[1]) P. Nolf, Contribution à l'étude de la coagulation du sang (8e mémoire). La coagulation chez les crustacés. Archives internationales de Physiologie 7, 411, 1909.

plasmatischen Gerinnung durchaus verschiedenen Vorgang darstellt. Da nun bei anderen Wirbellosen und auch bei Wirbeltieren der eigentlichen plasmatischen Gerinnung Agglutinationserscheinungen vorangehen, die der Zellagglutination bei Limulus ähnlich sind, so schloß ich, daß im ganzen Tierreich, wo immer eine Blutgerinnung beobachtet wurde, Zellveränderungen und Agglutinationsvorgänge den primären Prozeß darstellen, und daß diese Zellveränderungen eine der Ursachen der nachfolgenden Fibrinausscheidung sind. Demgegenüber führt Nolf einige Gründe an, die beweisen sollen, daß auch die Zellagglutination auf einer Fibrinbildung beruht, also nur den Beginn der Plasmagerinnung darstelle. Es wird hier nicht nötig sein, die Gründe im einzelnen eingehender zu besprechen, die für die erstgenannte Auffassung sprechen;[1]) nur einige Tatsachen mögen hervorgehoben werden. Es ist nicht möglich, bei Limulus Fibrinogen nachzuweisen. Es läßt sich weder durch die üblichen Methoden abscheiden, noch durch gerinnungserregende Substanzen im Plasma nachweisen. Es läßt sich sogar dann nicht nachweisen, wenn die sog. erste Gerinnung durch Mittel, die die chemischen Eigenschaften des Plasmas nicht verändern, vermieden wurde. Auch im defibrinierten Blut, d. h. Blut, in dem durch Rühren das Zellfibrin in Gestalt von Fäden ausgeschieden wurde, lassen sich nur Zellen, nicht aber Fibrinfasern nachweisen. Es läßt sich zeigen, daß die Bedingungen, unter denen die Bildung des Zellfibrins stattfindet, durchaus den Bedingungen entsprechen, unter denen die Zellen sich verändern.[2]) Hypertonische NaCl-Lösungen hemmen z. B. in demselben Maße die sog. erste Gerinnung, als sie die Blutzellen „fixieren" oder das Aussenden von Pseudopodien verhindern. Für die Agglutination kommen im wesentlichen folgende Faktoren in Betracht: 1. Die Änderung der Konsistenz der Zellen, ein Klebrigwerden der Zellen,

---

[1]) Es sei auf einige frühere Mitteilungen verwiesen: 1. Über die Bedeutung der Blutkörperchen für die Blutgerinnung usw. Virchows Archiv 173, 35, 1902; 2. Vergleichende Untersuchungen über die Thrombose. Virchows Archiv 185, 160, 1906; 3. Über die Koagulation des Blutes einiger Arthropoden. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 191, 1904; 4. Untersuchungen über d. Granula d. Amoebocyten. Folia haematologica 4, 313, 1907.

[2]) Vgl. hierüber besonders Folia haematologica 4, 313, 1907. Eine ausführlichere Mitteilung wird in Pflügers Archiv erscheinen.

das insbesondere mit der Bildung von hyalinem Exoplasma zusammenhängt. 2. Ein Aussenden von Pseudopodien; diese letzteren bestehen aus solchem klebrigen Exoplasma. 3. Die Bewegung der Flüssigkeit und der Zellen in der Flüssigkeit. Wo Zellen sich berühren, kleben sie zusammen. Entsprechende Veränderungen der Konsistenz der Zellen finden sich unter entsprechenden äußeren Bedingungen bei Amoeben in Wasser. Auch diese werden klebrig. Bei den Blutzellen finden sich diese Veränderungen, wie ich zeigte, ganz unabhängig von Gerinnungsvorgängen unter dem Einfluß gewisser physikalischer und chemischer Veränderungen. 4. Bei dem Auffangen des Blutes platzen eine gewisse Anzahl von Zellen, außerhalb des Körpers gehen bestimmte Auflösungsprozesse im Inneren der Zellen vor sich, die sich besonders in dem Verlust der Zellgranula äußern. Weiterhin werde ich zeigen, daß aus den Zellen extrahierte Substanzen für die sog. zweite Gerinnung des Limulusblutes verantwortlich sind; es ist daher möglich, daß solche viscösen Bestandteile des Zellprotoplasmas, die in die Blutflüssigkeit gelangen, mit zur Bildung des Zellfibrins beitragen, wie ich das schon früher hervorhob. Aber solche in der Blutflüssigkeit suspendierten Kolloide, die zur Agglutination beitragen, sind nicht Fibrinogen. Die Blutflüssigkeit von Limulus zeigt z. B. in viel höherem Grade agglutinierende Eigenschaften inerten festen Körpern, wie z. B. kleinen Stückchen von Eiweißgerinnsel, Spermatozoen gegenüber als Hummerplasma, obwohl letzteres sehr viel Fibrinogen enthält. Wenn daher inerte Körper im Limulusplasma agglutinieren, so handelt es sich dabei nicht um eine Ausscheidung von „A. Fibrinogen“ aus diesen Körpern, sondern um gewisse Bestandteile des Limulusplasmas, durch deren Besitz dieses sich von fibrinogenreichen Plasmen unterscheidet. Dafür spricht auch der Umstand, daß die Blutflüssigkeit des Limulus diese Agglutination nach völligem Ablauf der sog. Blutgerinnung bewirkt. Wir können also auch aus dieser Tatsache den Schluß ziehen, daß Fibrinogen auch an dieser Agglutinationserscheinung unbeteiligt ist. Vielleicht sind die aus den Blutzellen von Limulus extrahierbaren Substanzen, die später spontan ausfallen, an der Agglutination beteiligt. Dagegen spricht vielleicht der Umstand, daß sich solche Substanzen aus den Hummerblutzellen unter denselben Umständen nicht ausziehen lassen, obwohl doch auch

hier eine Zellagglutination stattfindet. Obwohl die Teilnahme der Zellkolloide, die in die Blutflüssigkeit geraten, wahrscheinlich zum Zustandekommen der sog. ersten Gerinnung nicht nötig ist und die anderen obengenannten Faktoren zu der Bildung des Zellfibrins genügen, so läßt sich doch eine Beteiligung dieser oder ähnlicher, von Fibrinogen verschiedener Kolloide an der Bildung des Zellfibrins nicht ausschließen.

Die Veränderungen der Blutzellen stellen den primären Vorgang dar, und diese Veränderungen finden in typischer Weise statt, wenn man eine geringe Menge Blut in einem Überschuß einer bestimmten Lösung verteilt, so daß Gerinnungserscheinungen die Blutzellen nicht wesentlich beeinflußen können. Die Veränderungen der Blutzellen treten nicht als eine Folge der Koagulationserscheinungen auf, wie das Nolf annimmt; sie gehen zeitlich den Koagulationserscheinungen voran und finden unter Bedingungen statt, unter denen die Koagulation des Fibrinogens nicht eintritt. Die Art der Einwirkung der verschiedenen physikalischen und chemischen Faktoren auf die Zellen läßt sich vollständig auf Grund der bekannten Einwirkungen solcher Agenzien auf andere Zellen und auf Kolloide verstehen. Dazu kommt dann noch eine besondere Labilität dieser Zellelemente. So konnte ich nachweisen, daß motorische Erscheinungen in diesen Zellen zu einer Auflösung der Zellgranula führen. Mit den protoplasmatischen Bewegungen gehen im Inneren der Zelle Veränderungen vor sich, die zur Auflösung der Granula führen. Mechanische Faktoren (z. B. Auffallen der Zellen auf den Objektträger) bewirken, daß nach dem Ausfließen des Blutes aus dem Körper des Tieres eine Anzahl von Zellen platzen und daß das Protoplasma sich mit der Blutflüssigkeit und Lösung mischt.[1]) Aber die Blutkoagulation hat mit einer solchen Zerstörung von Zellen nichts zu tun. Es ist durchaus irrig, anzunehmen, daß bei Wirbellosen die Blutgerinnung zu einer Auflösung vieler Blutzellen führt. Wenn man das Limulusblut durch einen Troikart entnimmt und dann das Blut mit einem Stabe um-

[1]) Durch Zug und Druck können die Zellen in Fadensysteme umgewandelt werden. Von einer cytolytischen Eigenschaft des Serums, einem Ausdruck, den ich selbst einmal in einem anderen Zusammenhang gebrauchte, kann nur in dem Sinne gesprochen werden, daß das Blutserum die Auflösung der Granula nicht hindert.

rührt oder heftig schüttelt, so erhält man das Zellfibrin in Fäden. Diese Fäden bestehen aus Blutzellen, die aneinander kleben und sehr gut erhalten sind. Auch die Zellgranula verlieren sich hier nicht, da die Ausbreitung der Zellen unter diesen Umständen unterbleibt. Es möge hier auch bemerkt werden, daß es weder bei dem Hummer noch bei Limulus besondere „explosive“ Zellen gibt. Es gibt hier nur eine einzige Art von Blutzellen. Wie die Veränderungen der Blutzellen unabhängig von der Blutgerinnung stattfinden, so sind auf der anderen Seite die Veränderungen (aber nicht die nur akzidentelle Zerstörung) der Blutzellen die Ursache dafür, daß das Blutkoagulin frei wird und sodann das Fibrinogen zur Gerinnung bringt. Ich zeigte früher, daß die spontane Gerinnung des Hummerplasmas auf der Wirkung solcher Blutkoaguline und nicht auf der Wirkung der Muskelkoaguline beruht. In der Kälte bleiben, wie ich zeigte, die Blutzellen erhalten, und die Blutkoaguline treten nicht in das Plasma über. In ähnlicher Weise bleiben auch im Körper des Tieres unter normalen. Bedingungen die Zellen erhalten und geben kein Koagulin ab Außerdem hemmt dann aber die Kälte auch die Gerinnung sogar nach Zusatz gerinnungserregender Substanzen.

Es ist nicht durchweg zutreffend, das alle Substanzen, die die plasmatische Gerinnung hemmen, auch die Blutzellen mehr oder weniger erhalten. Harnstofflösungen und schwache wässerige Alkalilösungen hemmen die plasmatische Gerinnung, zerstören aber die Blutzellen, die in schwach alkalischen Lösungen eine Gallerte — gequollenes Zellfibrin — bilden. Umgekehrt ist es ja ganz klar, daß zum Beispiel stark konzentrierte Salzlösungen das Klebrigwerden der Blutzellen verhindern und dadurch das Zusammenkleben der Zellen und die Bildung des Zellfibrins hemmen.

Hier haben wir es nur mit den im Blute der Wirbellosen stattfindenden Vorgängen zu tun. Doch möge darauf hingewiesen werden, daß bei Wirbeltieren, wie es scheint, die Verhältnisse ganz analog liegen. Auch hier geht der plasmatischen Gerinnung eine Agglutination gewisser körperlicher Elemente des Blutes voraus, nämlich der Spindeln und der Blutplättchen. Diese stellen sehr labile, leicht klebrig werdende Gebilde dar, die in ihrem Verhalten und in gewissen Funktionen den Blut-

zellen der Wirbellosen entsprechen. Also auch hier agglutinieren z. B. nicht die Leukocyten des Wirbeltierblutes, sondern nur bestimmte Elemente, eben die Plättchen. Schon von Haycraft und von anderen Autoren wurde darauf hingewiesen, daß das Hirudin, das die Gerinnung hindert, auch auf die Blutplättchen erhaltend wirkt (Duccheschi, Bürker). Auch andere gerinnungshemmende Substanzen sollen ähnlich wirken. Nolf schließt daraus, daß es erst die Gerinnungsvorgänge sind, die die zelligen Elemente des Blutes verändern. Dieser Schluß ist nicht zwingend. Wir wissen nicht, wie das Hirudin die Gerinnung hindert. Ein Parallelismus in der Einwirkung physikalischer und chemischer Agenzien auf Zellen und Fermente läßt sich auch sonst nachweisen. Ich habe schon wiederholt auf eine solche Analogie hingewiesen. Wie sich zeigte, bleiben die Zellgranula der auf Paraffin gehaltenen Amoebocyten erhalten, während dieselben auf Glas (unabhängig von der alkalischen Reaktion derselben) allmählich aufgelöst werden. Entsprechend zeigten Bordet und Gengou[1]), daß in Berührung mit Paraffin das Prothrombin des Wirbeltierblutes erhalten bleibt, während in Berührung mit Glas es sich in Thrombin umwandelt (in Thrombin zerfällt?). Weiterhin sei auf die kürzlich beschriebene deletäre Einwirkung des Schüttelns auf Fermente und auf eine gleichartige Wirkung auf Zellen hingewiesen.

Also die bestehenden Analogien in der Einwirkung gewisser Substanzen auf fermentartig wirkende, die Blutgerinnung herbeiführende Substanzen und auf gewisse körperliche Elemente des Blutes beweisen nicht, daß eine vorangehende Gerinnung die Ursache der Zellveränderungen ist.

Ebenso wenig beweist die Tatsache, die jedem, der Gerinnungsvorgänge untersuchte, bekannt ist, daß nämlich bei einer beginnenden Ausscheidung von Fibrin dieses sich zuerst um körperliche Elemente niederschlägt und so eine Zusammenballung dieser Elemente bewirken kann, daß die Bildung von Fibrin die einzige Ursache einer solchen Zusammenstellung ist. Im Falle des Limulusblutes findet diese ohne die Mitwirkung

---

[1]) Recherches sur la coagulation du sang. Annnales de l'Inst. Pasteur 17, 1903.

von Fibrin statt. In anderen Fällen konnte die Agglutination von Zellen sogar in eiweißfreien Medien nachgewiesen werden.[1])

Zum Schlusse soll darauf hingewiesen werden, daß ich zeigte, daß die physikalischen Eigenschaften des Protoplasmas der Amoebocyten alle bei der sog. Blutgerinnung eintretenden Veränderungen (Zusammenkleben, Fadenbildung, Retraktion des Zellfibrins) wohl zu erklären imstande sind.

Über die sog. zweite Gerinnung des Limulusblutes.

In einer früheren Mitteilung teilte ich einige Beobachtungen über die sekundäre Bildung von Gerinnseln mit, die sich nach Ablauf der ersten Gerinnung in dem Plasma gewöhnlich direkt in der Umgebung des Zellfibrins bilden.[2])

Ich stellte fest: 1. daß Fibrinogen in dem Limulusblute nicht nachweisbar ist, daß diese Coagula also nicht mit dem in dem Blute des Hummers und anderer Crustaceen sich bildenden echten Fibringerinnseln vergleichbar sind; 2. daß Muskelextrakte nicht durch die in ihnen enthaltenen Gewebskoaguline in dem Limulusblute Gerinnung bewirken, sondern indifferente Präcipitation, wahrscheinlich durch Veränderung der Reaktion hervorrufen; 3. daß auch Thrombin enthaltende Blutsera keine typische Gerinnung veranlassen. Ich schloß daraus, daß die zweite Gerinnung des Limulusblutes durchaus verschieden von der echten Gerinnung einiger anderer Crustaceen ist, daß es sich hierbei um Niederschläge anderer Natur handelt. Nun fand ich aber weiter,[3]) daß es möglich ist, Gerinnselbildung dadurch hervorzurufen, daß man das Zellfibrin des Limulusblutes mit einer Mischung von Limulusblutserum und destilliertem Wasser extrahiert und etwa 1 Teil des Extraktes zu 3 Teilen des Limulusplasmas hinzufügt. Unter diesen Umständen bildete sich eine mehr oder weniger vollständige Gelatine. Da sich nun auch in dem Limulusplasma anscheinend spontan Gerinnsel bilden können, so war die nächstliegende Annahme die, daß aus den Blutzellen des Limulus Substanzen extrahiert werden können, die mit einer im Plasma vorhandenen Substanz zur

---

[1]) Vgl. z. B. Jacques Loeb, Kolloid-Zeitschr. 3, 113, 1908. Vgl. auch über die Agglutination der Blutplättchen: Achard und Aynaud, Archives Médecine Experim. I, 21, 754, 1909. Nach den Untersuchungen von C. L. Alsberg und E. D. Clark (Journ. of Biolog. Chem. 5, 323. 1908) steht das Zellfibrin von Limulus chemisch der Elastin- oder Glutengruppe nahe.

[2]) Über die Koagulation des Blutes einiger Arthropoden, l. c. und und in einigen anderen Mitteilungen.

[3]) Über die zweite Gerinnung des Blutes von Limulus, diese Zeitschr. 16, 157, 1909.

Bildung von Präcipitaten führen. Diese Erklärung erschien als die wahrscheinlichste, da es möglich war, mit einer relativ geringen Menge Extrakt die gesamte Flüssigkeit zum Erstarren zu bringen.

Aber schon damals dachte ich an die Möglichkeit, daß die sich niederschlagende Substanz als solche aus den Blutzellen extrahiert wird, daß dieselbe erst in Lösung ist und allmählich sich als Gelatine ausscheidet. Ich prüfte diese Annahme im vergangenen Sommer in Woods Holl und fand dieselbe bestätigt. Nachdem man nämlich den Zellfibrinextrakt hergestellt hat, bilden sich die gelatinösen Coagula nicht nur nach Vermischen desselben mit Limulusplasma, sondern auch nach Zusatz zu etwa der doppelten oder dreifachen Menge von Seewasser oder destilliertem Wasser, und zwar ist die Quantität der Gelatine ebenso groß nach Zusatz zu anderen Flüssigkeiten wie nach Vermischen mit Limulusplasma.

Daraus folgt, daß die Substanz aus den Blutzellen des Limulus extrahiert wird. Dieselbe Substanz findet sich nun auch im Limulusplasma, da dieses ja nicht frei von Blutzellen gewonnen werden kann; bis zur Beendigung des Defibrinierens ist genügend Gelegenheit zur Extraktion gegeben. Doch ist die im Limulusplasma vorhandene Quantität bedeutend geringer als die im Extrakt gelöste Substanz. Ferner fand sich, wenigstens in den bisher angestellten Versuchen, daß das durch Defibrinieren erhaltene Limulusplasma eine geringere Menge dieser Substanz enthält als das Plasma, das dadurch erhalten wird, daß man nach Beendigung der Blutgerinnung die spontane Retraktion des Zellfibrins abwartet und dann das Plasma abgießt. In dem letzteren Falle bleibt das Plasma länger in Kontakt mit den Blutzellen, und die Gelegenheit zur Extraktion dieser Substanz ist dann besser. Aus dem Zellfibrin kann diese Substanz in einigen Stunden durch verschiedene Flüssigkeiten extrahiert werden (z. B. Crustaceenblutserum, destilliertes Wasser, Seewasser, $^{5}/_{8}$ n-NaCl-Lösung, $^{1}/_{100}$ n-NaOH oder $^{1}/_{100}$ n-HCl in $^{5}/_{8}$ n-NaCl-Lösung). Die saure NaCl-Lösung ist am wenigsten zur Extraktion geeignet. Die Extraktion wird in der Kälte vorgenommen. Dasselbe Zellfibrin kann wiederholt zur Extraktion benutzt werden. Die Bedingungen, die zur Ausscheidung dieser Substanz führen, bedürfen noch eingehenderer Analyse. Doch scheint nach den bisher angestellten Versuchen die Aus-

scheidung der kolloiden Substanz bei Zimmertemperatur viel besser von statten zu gehen als im Eisschrank.

Ebenso scheint Verdünnung begünstigend zu wirken, und zwar wirkte nach Extraktion mit $^5/_8$ n-NaCl-Lösung oder mit Seewasser eine Verdünnung mit destilliertem Wasser besser als eine Verdünnung mit Limulusplasma, mit $^5/_8$ n-NaCl oder Seewasser, während nach Extraktion mit destilliertem Wasser die Ausscheidung in $^5/_8$ n-NaCl und Limulusplasma stattfand. Es scheint daher nach diesen lediglich orientierenden Versuchen, daß eine gewisse Salzkonzentration, die geringer ist als die im Seewasser vorhandene, die Ausscheidung der betreffenden Substanz begünstigt.

Daß Bakterienwirkung für die Ausscheidung nicht wesentlich ist, scheint daraus hervorzugehen, daß Zusatz von Thymol die Bildung der Coagula nicht verhindert.

Aus Hummerzellfibrin ließ sich eine ähnliche Substanz nicht extrahieren. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß bei Mischung von Hummer- und Limulusserum in gewissen Proportionen sich Präcipitate bilden.

Wir sehen also, daß aus den Blutzellen des Limulus Substanzen extrahiert werden, die die Neigung haben, sich in Form einer Gelatine auszuscheiden, und da auch bei der durch einen Einstich in das Gelenk des Tieres ohne Anwendung einer Kanüle vorgenommenen Blutentnahme eine Anzahl von Zellen zerfallen, so ist es sehr wohl möglich, daß diese in das Plasma übergetretene Zellsubstanz zur Bildung des ersten Gerinnsels, des Zellfibrins, beiträgt; eine Annahme, die mit meiner Erklärung der Gerinnung des Limulusblutes in Einklang steht.

Über die Herkunft des Gewebskoagulins.

Meine Untersuchungen über die plasmatische (zweite) Gerinnung bei Crustaceen führten zu dem Schlusse, daß zwei verschiedene gerinnungserregende Substanzen diese echte Gerinnung bewirken, nämlich erstens die in den Blutzellen vorhandenen Blutkoaguline und zweitens die in den Geweben, insbesondere im Muskel vorhandenen Gewebskoaguline. Auf Grund vielfach variierter Versuche folgerte ich, daß diese beiden Substanzen direkt am Fibrinogen angreifen und es in Fibrin umwandeln. Das Gewebskoagulin hat bei Wirbellosen nicht die Bedeutung einer Kinase. Gewebs- und Blutkoaguline sind nicht identische

Substanzen. Es finden sich zwischen ihnen ähnliche Unterschiede wie zwischen den im Blutserum (Thrombin) und in den Geweben (Gewebskoagulin) von Wirbeltieren enthaltenen gerinnungsbeschleunigenden Substanzen.

Auf weitere, den Mechanismus der Wirkungsweise dieser Substanzen bei Wirbellosen betreffende Versuche, die in meinen früheren Mitteilungen[1]) veröffentlicht sind, soll an dieser Stelle nicht eingegangen werden.

Demgegenüber kommt Nolf zu dem Schlusse, daß nur eine einzige Substanz, nämlich die aus den Blutzellen stammenden Blutkoaguline an dem Fibrinogen angreifen und es in Fibrin umwandeln. Die Wirkung des Muskels und seines Extraktes beruhe nur auf Beimischung von Blut zu dem Muskel.

Das ist eine Möglichkeit, die ich im Anfang meiner Untersuchungen erwog, aber als mit den Tatsachen unvereinbar zurückwies.

Die im Muskel enthaltenen gerinnungserregenden Substanzen sind nicht im beigemischten Blut, sondern im Muskelgewebe selbst enthalten. Einige Gründe für diese Schlußfolgerung seien im folgenden angeführt:

1. Die Stärke des Muskelextrakts ist ganz unabhängig von der Menge des beigemischten Blutes. In meinen Versuchen wurde das Tier vor der Entnahme des Muskels entblutet, der Muskel sodann in destilliertem Wasser gewaschen und getrocknet. Mikroskopische Untersuchung des frischen und von Schnitten des fixierten und gefärbten Muskels ergab, daß unter diesen Umständen das Muskelgewebe nur sehr geringe Mengen Blutes enthielt. Der Muskelextrakt ist aber so unvergleichlich aktiver als geringe Mengen Zellfibrins, daß es ganz ausgeschlossen ist, daß seine Wirksamkeit auf diesen geringen Mengen beigemengten Zellfibrins beruht.

2. Nicht nur Muskelextrakt, sondern auch Muskelstücke als solche bewirken eine ausgesprochene Gerinnung. Falls nun das Blut, das im Muskel eingeschlossen ist, gerinnen sollte (und das wäre nötig, falls es die Gerinnung des umgebenden fremden Plasmas herbeiführen sollte), so würde das Zellfibrin von einem gelatinösen Coagulum seines eigenen Plasmas umgeben sein. Nun zeigte ich früher und Nolf bestätigt diese Tatsache, daß das gelatinöse zweite Coagulum gewöhnlich unfähig ist, Gerinnung zu bewirken. Unter diesen Umständen also könnte das eingeschlossene Blutgemisch, auch falls es in größerer Menge vorhanden

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 260, 1905; 8, 67, 1906; 9, 185, 1907.

wäre, nur eine viel schwächere Gerinnung bewirken, als der Muskel dies tut.

3. Es läßt sich nachweisen, daß in einer Anzahl von Fällen Gewebskoaguline vorhanden sind, in Fällen, in denen Blutkoaguline ganz oder fast ganz fehlen. Das ist der Fall in schwächlichen oder kranken Hummern. Hier beobachtete ich gewöhnlich, daß ich dies Vorhandensein von Blutkoagulinen nicht nachweisen konnte, während Gewebskoaguline in dem Muskel in großer Quantität vorhanden waren.

4. Umgekehrt fehlen in gewissen Tierarten, wie Libinia, Limulus, Gewebskoaguline im Muskel, obwohl Blutkoaguline vorhanden sind. Daß die Abwesenheit von Gewebskoagulinen nicht durch das Vorhandensein von gerinnungshemmenden Substanzen vorgetäuscht wird, das läßt sich dadurch nachweisen, daß man den Muskelextrakt gegen destilliertes Wasser dialysiert. Dadurch werden etwaig vorhandene gerinnungshemmende Substanzen relativ schnell entfernt. Auch in dialysierten Extrakten läßt sich bei diesen Tieren keine gerinnungsbeschleunigende Substanz nachweisen. Auch sonst besteht in den verschiedenen Tierarten gar keine Beziehung zwischen der Stärke der Blut- und der Gewebskoaguline.

5. Es läßt sich nachweisen, daß Blut- und Gewebskoaguline in ihren Eigenschaften verschieden sind. Darüber soll weiteres fernerhin berichtet werden.

Aus alledem folgt mit Sicherheit, daß bei Crustaceen wie bei Wirbeltieren in den Geweben Coaguline vorkommen, die nicht aus dem beigemischten Blut oder aus beigemengter Lymphe stammen.

Über Unterschiede in dem Verhalten der Blut- und Gewebskoaguline.

Es kann also als sichergestellt betrachtet werden, daß Blutzellen und Gewebe, insbesondere der Muskel unabhängig voneinander die Ursprungsstätte von Koagulinen sind. Ich zog nun schon im Laufe meiner früheren Untersuchungen die Frage in Erwägung, ob diese beiden Substanzen identisch sind. Hier, wie im Falle des Wirbeltierblutes kann die Frage nicht direkt und nicht mit voller Sicherheit entschieden werden, da es noch nicht möglich ist, die wirksamen Substanzen rein darzustellen; aber in beiden Fällen machen Unterschiede in dem Verhalten der betreffenden Substanzen es wahrscheinlich, daß dieselben nicht identisch sind, und es ist wichtig, daß Gewebs- und Blutkoaguline bei Wirbeltieren und bei Wirbellosen ähnliche Unterschiede zeigen.

a) Die Blutkoaguline sind bei Wirbellosen und bei Wirbeltieren gegen schädliche Einflüsse weniger widerstandsfähig als die Gewebs-

koaguline. Dies zeigt sich z. B. bei Wirbellosen in der größeren Empfindlichkeit des Blutserums gegenüber einem Zusatz von Toluol. Es zeigt sich insbesondere auch in dem viel schnelleren Verlust der Wirksamkeit, den die im Blutserum enthaltenen Koaguline bei längerem Stehen zeigen.

Auch bei anderen Spezies von Crustaceen fand Nolf kürzlich dieselben Unterschiede in der Empfindlichkeit der Blutkoaguline (Blutserum oder Zellfibrinextrakt) und der Gewebsextrakte.

Es ist nun nicht ohne Interesse, daß ich neuerdings fand, daß die in dem Blute des Callinectes (Bluecrab) enthaltenen gerinnungsbeschleunigenden Substanzen bedeutend stabiler sind als die in dem Hummerblute enthaltenen Koaguline. So verlor z. B. in einem Versuch das auf Eis gehaltene Hummerserum im Laufe von 2 Tagen 22fach an Wirksamkeit, während das in gleicher Weise aufbewahrte Callinectesserum nur 6fach an Wirksamkeit verlor. Während das Hummerserum schon nach wenigen Stunden an Kraft abnimmt und nach 3 Tagen geradezu fast wirkungslos ist, kann das Callinectesserum auch nach 5tägigem Stehen auf Eis noch einen großen Teil seiner gerinnungsbeschleunigenden Kraft bewahrt haben.

Wie ich früher berichtete, unterscheidet sich das Callinectesblut von dem Blute der anderen Crustaceen auch dadurch, daß das zweite Coagulum (das eigentliche plasmatische Coagulum) bald nach seiner Bildung noch gerinnungserzeugende Kraft aufweist. Bald nach der Blutentnahme ist also relativ viel Blutkoagulin aus den Blutzellen in das umgebende Blutplasma ausgetreten, und das erklärt auch die schnelle Gerinnung des Callinectesblutes nach der Entnahme des Blutes. Es schließt sich daher bei diesem Tiere die zweite Gerinnung direkt an die Bildung des Zellfibrins an.

Auch die im Innern des auf Eis gehaltenen Coagulums enthaltenen Blutkoaguline nahmen bei Callinectes allmählich an Kraft ab; das 50 Minuten nach der Blutentnahme ausgepreßte Serum war z. B. aktiver als das aus dem 1 bis 2 Tage alten Coagulum ausgepreßte Serum, obwohl diese Coagula auf Eis gehalten wurden. Doch waren auch die nach einigen Tagen ausgepreßten Sera in Übereinstimmung mit dem, was oben über die relative Beständigkeit der Blutkoaguline des Callinectes gesagt wurde, noch recht wirksam. Im allgemeinen bleiben die gerinnungsbeschleunigenden Substanzen des Blutes in dem Coagulum besser erhalten als in dem daraus ausgepreßten Serum.

Trotz der im Falle des Callinectesblutes gefundenen Abweichung ist im allgemeinen der Schluß, daß die Blutkoaguline merklich labiler sind als die Gewebskoaguline, zutreffend.

b) Das Thrombin der Säugetiere bewirkt die Gerinnung des Plasmas ohne Beseitigung von freien Ca-Ionen, während die Gewebskoaguline Calcium zu ihrer Wirkung nötig haben. Ich zeigte, daß bei Wirbellosen die aus den Blutzellen stammenden und im Serum vorhandenen Koaguline in weiten Grenzen von der Anwesenheit von Calcium unabhängig sind, während die Gewebskoaguline, falls das Optimum ihrer Wirkung erzielt

werden soll, eine beträchtliche Menge von Ca brauchen. Ich zeigte ferner, daß diese Unterschiede im Verhalten gegen Calcium nicht lediglich auf Beimischungen beruhen, die neben den gerinnungsbeschleunigenden Substanzen in den Flüssigkeiten vorhanden sind. Ich schloß jedoch nicht die Möglichkeit aus, daß auch die Blutkoaguline eine sehr geringe Menge von Calcium nötig haben; aber der große Unterschied zwischen den Blut- und Gewebskoagulinen in bezug auf das Ca-Bedürfnis wird dadurch nicht berührt. Wie gering das Ca-Bedürfnis der Blutkoaguline ist, ergibt sich z. B. daraus, daß durch zweimalige Präcipitierung hergestelltes Fibrinogen mit einem eine kurze Zeit dialysierten Serum trotz des Zusatzes der durch Ca-Bindung wirkenden, in dem Muskel vorhandenen hemmenden Substanz Gerinnung bewirkt. Ich konnte auch in diesem Falle nicht die Mitwirkung einer geringen Menge von Ca ausschließen. Insbesondere zeigte ich auch, daß nach Zusatz einer gewissen Quantität von Oxalat oder Fluorid weder Blut noch Gewebskoaguline Gerinnung bewirken; daß aber nach Zusatz von $CaCl_2$ zu dem Oxalatplasma die Koaguline, die nachträglich zugesetzt werden, die Gerinnung herbeiführen. Diese Befunde benutzte Nolf zur Herstellung eines stabilen entkalkten Plasmas, das sich analog dem von mir früher einfach durch Erwärmen hergestellten stabilen Plasma zu verhalten scheint.[1]) Diese Tatsachen legten nun die Annahme nahe, daß auch die Blutkoaguline eine sehr geringe Quantität von Ca brauchen. Andrerseits wies ich darauf hin, daß auch beim Säugetierblut die Ca-präcipitierenden Substanzen, insbesondere die Fluoride nach Bordet sekundäre, von ihrer Ca-fällenden Eigenschaft unabhängige gerinnungshemmende Wirkungen ausüben können, und daß möglicherweise die Koaguline der Crustaceen besonders empfindlich solchen Substanzen gegenüber sind. Ich glaube, daß die von Nolf aus meinen oben angeführten Befunden gezogene Schlußfolgerung, daß Blut- und Gewebskoaguline identisch sind, nicht den Tatsachen gerecht wird. Der merkliche Unterschied in dem Ca-Bedürfnis der Blut- und Gewebskoaguline, der von mir festgestellt wurde, bleibt bestehen.[2]) Außerdem unterscheiden sich die beiden Koaguline noch, wie ich früher nachwies, in ihrem Verhalten gegen andere Ione und Salze.

Es ist nun hierbei ein Umstand zu berücksichtigen, der einen eventuell bestehenden Unterschied in dem Verhalten der Säugetier-

---

[1]) Dieses Plasma ist offenbar deswegen stabil, weil die geringe Menge von Blutkoagulin (Thrombin), die aus den Blutzellen in das Plasma übertrat und die nach meiner Darstellungsweise des stabilen Plasmas durch Erwärmen inaktiviert worden war, hier durch den entstehenden Niederschlag von Ca-Oxalat niedergerissen und entfernt wurde. Wahrscheinlich würde irgend ein anderer, sonst indifferenter Niederschlag ähnlich wirken.

[2]) Diese Unterschiede in dem Ca-Bedürfnis sind auch noch nach Dialyse des Muskelextraktes vorhanden. Sie beruhen also nicht auf Beimischung von Ca-bindenden Substanzen, die, wie ich zeigte, in dem Muskelextrakt vorhanden sind.

thrombine und der Blutkoaguline der Crustaceen erklären mag. Ebenso wie die gerinnungsbeschleunigenden Substanzen der Crustaceen an eine niedrigere Körpertemperatur adaptiert sind und daher schon bei schwächerem Erwärmen abgetötet werden als die entsprechenden Substanzen der Säugetiere, so mag auch die Tatsache, daß die Blutzellen der Meerescrustaceen an einen viel höheren Salz- und insbesondere Ca-Gehalt gewöhnt sind als das Säugetierthrombin, sehr wohl einen möglicherweise bestehenden geringen Unterschied in dem Ca-Bedürfnis des Säugetierthrombins und des Blutkoagulins der marinen Crustaceen erklären.

Die Unterscheidungsmerkmale zwischen den Blut- und Gewebskoagulinen der Crustaceen sind so charakteristisch, daß sie die Feststellung ermöglichten, daß die anscheinend spontane Gerinnung des Crustaceenblutes durch in das Blutplasma übergetretene Blutkoaguline und nicht durch die während der Blutentnahme beigemengten, sehr aktiven Gewebskoaguline verursacht werden.

Besteht eine spezifische Adaptation der Gewebskoaguline bei Wirbellosen?

In vor etwa 8 Jahren ausgeführten Untersuchungen stieß ich zuerst auf Tatsachen, die auf eine spezifische Adaptation der gerinnungserregenden Substanzen hinwiesen, und ich verglich schon damals diese Substanzen mit den künstlich erzeugten Immunkörpern.[1]) Damals unterschied ich noch nicht zwischen den Gewebs- und Blutkoagulinen. In weiteren Untersuchungen[2]) zeigte ich dann, daß die spezifische Adaptation der Gewebskoaguline ganz allgemein verschiedenen Klassen der Wirbeltiere zukommt, innerhalb derselben Wirbeltierklasse aber nicht nachweisbar ist. Gleichzeitig fand Hewlett in dem einen Falle, der von ihm untersucht wurde, eine Spezifizität der Gewebsextrakte. Diese Tatsachen wurden von verschiedenen Autoren, wie Muraschew und Nolf, bestätigt. Jedoch erklärt Nolf diese spezifische Adaptation durch die Beziehungen der Gewebskoaguline zu Vorstufen des Thrombins und nicht durch direkte Beziehungen zum Fibrinogen, wie ich das tat. Weiterhin glaubte ich nun auch bei Wirbellosen eine spezifische Adaptation der Gewebskoaguline zu finden. Hummerplasma sowie Callinectes-

[1]) Virchows Archiv 173, 1903.

[2]) Virchows Archiv 176, 1904.

plasma werden am schnellsten durch den Muskel von Crustaceen zur Gerinnung gebracht, gar nicht durch Wirbeltiersubstanzen und viel schwächer durch Substanzen, die von anderen Wirbellosen herstammen. Diese Untersuchungen über die spezifische Adaptation der Gewebskoaguline bei Wirbellosen stellte ich zu einer Zeit an, wo ich noch nicht mit stabilen, fibrinogenhaltigen Plasmen arbeitete. Ich prüfte daher einige Ergebnisse mit stabilem Hummer- und Callinectesplasma. Letzteres kann nicht auf dieselbe Weise hergestellt werden, die von mir beim Hummer benutzt wurde. Das Blutplasma gerinnt außerordentlich schnell bei Callinectes, und es ist sehr schwierig, auch nur eine geringe Menge stabilen Plasmas von Callinectes auf diese Weise zu erhalten.

Man kann dasselbe jedoch in einfacher Weise dadurch herstellen, daß man das Blut direkt in auf 52° bis 56° erwärmter Flüssigkeit (H_2O und Seewasser zu gleichen Teilen) auffängt, so daß etwa gleiche Volumen Blut und Wasser gemischt werden, sodann zur Entfernung des Zellfibrins durch Gaze filtriert und dann 20 Minuten auf 52° erwärmt. Während nun die Gerinnung des nicht stabilen Callinectesplasmas durch Limulusmuskel beschleunigt wurde, war dies nicht der Fall, falls stabiles Callinectesplasma benutzt wurde.

In diesem Falle konnte ich nun auch keine spezifische Adaptation der Gewebskoaguline von Crustaceen innerhalb der Klasse der Crustaceen nachweisen. Hiernach muß ich Nolfs Einwand gegen meinen früheren Befund als zu Recht bestehend anerkennen. Dies berührt aber nicht die von mir früher gefundene Tatsache, daß Hummermuskel und Callinectesmuskel Hummer und Callinectesplasma schneller zur Gerinnung bringen als irgendwelche Gewebe von Tieren, die nicht zur Klasse der Crustaceen gehören, wenn auch, ebenso wie bei Wirbeltieren, innerhalb derselben Tierklasse, wie ich jetzt fand, eine solche spezifische Adaptation nicht nachweisbar ist. Trotzdem kann aus dieser Tatsache noch nicht der Schluß gezogen werden, daß bei Wirbellosen eine spezifische Adaptation besteht, und zwar deshalb nicht, weil nur bei den Crustaceen bisher ein fibrinogenhaltiges Plasma nachgewiesen wurde. Es ist daher wohl möglich, daß absolut die Quantität der in den Geweben anderer Tierklassen vorhandenen Koaguline viel geringer ist als bei Crustaceen, oder daß sie sogar ganz fehlen. Nur bei Wirbeltieren sind Gewebskoaguline nachweisbar, und diese sind ohne Wirkung

auf Crustaceenplasma. Wir müssen also vorläufig die Frage, ob auch bei Wirbellosen eine spezifische Adaptation der Gewebskoaguline besteht, als unentschieden betrachten.

Über nicht spezifische gerinnungsbeschleunigende Faktoren.

Es ist bekannt, daß die Gerinnung des Wirbeltierblutes durch Zusatz von anscheinend chemisch inerten Fremdkörpern, wie Kohle, merklich beschleunigt werden kann. Ich zeigte, daß weder im spontan gerinnenden noch im stabilen Plasma der Wirbellosen solche Fremdkörper eine bemerkbare Beschleunigung ausüben. Sie bestimmen allerdings auch hier unter gewissen Umständen die Stelle, an der sich das Fibrin zuerst ausscheidet. Nun fand ich aber ferner, daß in der spontanen Gerinnung begriffene Plasmen zuweilen durch Substanzen beeinflußt werden, die unter gewöhnlichen Umständen ohne Wirkung sind, so z. B. durch auf 45° erwärmten Muskelextrakt oder durch auf 52° erwärmtes Zellfibrin. In ähnlicher Weise finden wir, daß Limulusmuskel die Gerinnung des spontan gerinnenden Callinectesblutes beschleunigt, während es die Gerinnung des stabilen Plasmas unbeeinflußt läßt. Ich betrachtete diese Wirkung als eine nicht spezifische, mit der von Fremdkörpern ausgeübten vergleichbare. Auch Nolf vergleicht die Wirkung dieser inaktivierten Stoffe mit der von Fremdkörpern ausgeübten und faßt alle diese Wirkungen unter der Bezeichnung „thromboplastische" zusammen. Es ist aber zweifelhaft, ob es sich nicht im Falle des erwärmten Zellfibrins oder Muskelextrakts doch um sehr geringe Mengen der spezifischen Blut- oder Gewebskoaguline handelt, die der Zerstörung entgingen und eine Wirkung gegenüber Plasma, das der Gerinnung nahe ist, ausüben. Doch könnten in dem inaktivierten Zellfibrin oder Muskelextrakt auch andere chemisch wirksame Substanzen vorhanden sein, die nicht in der Art von Fremdkörpern wirken, in ähnlicher Weise wie Wittes Pepton die Gerinnung des Gansplasmas in vitro beschleunigt. Ähnlich verhalten sich gewisse Gifte und Bakterienkulturen.[1]) Es dürfte sich daher vorläufig

[1]) Über die Wirkung von Bakterien auf die Blutkoagulation veröffentlichte ich vor 7 Jahren Untersuchungen (The influence of certain bacteria on the coagulation of the blood. Journ. of Med., Research 10, 1903, 407; vgl. auch mein Sammelreferat im Biochem. Centralbl. 6, 1907). Ich stellte unter anderem fest, daß besonders Kulturen von Sta-

nicht empfehlen, solche chemisch wirkenden Substanzen und Fremdkörper unter einer Bezeichnung zusammenzufassen, da es sich hier voraussichtlich um Wirkungen sehr verschiedener Art handelt. Jedenfalls können wir aber die Blut- und Gewebskoaguline von verschiedenen anderen Substanzen, wie Toxinen, Pepton (in vitro) usw., abtrennen. Die ersteren sind gewöhnlich viel stärker wirksam und zeigen physiologische Beziehungen zu der Plasmagerinnung. Besonders zu betrachten ist dann noch eine Anzahl von Fremdkörpern, deren Wirkung wohl im wesentlichen eine physikalische ist.

Zusammenfassung.

Während insbesondere aus den Untersuchungen von Morawitz und Fuld, Nolf, Bordet und Gengou und auch aus meinen eigenen Untersuchungen hervorgeht, daß bei Wirbeltieren die Beziehungen zwischen Gewebskoagulinen (Thrombokinasae von Morawitz) und ihnen ähnlichen Substanzen und Blutkoagulinen sehr komplizierte sind, und ich insbesondere darauf hinwies, daß bei Wirbeltieren eine Reihe sekundärer Vorgänge, die ich zum Teil mit autokatalytischen Prozessen verglich, hinzutreten, liegen bei Wirbellosen die Verhältnisse bei der Blutgerinnung viel einfacher. Blut- und Gewebskoaguline verursachen direkt die Gerinnung des Plasmas; beide Substanzen werden direkt aus dem Muskel oder aus den Blutzellen extrahiert. Sie sind, um wirksam zu werden, nur auf die Gegenwart von Salzen angewiesen. Auch Nolf schließt sich diesen Schlußfolgerungen an; nur daß er Gewebs- und Blutkoaguline identifiziert.

---

phylococcus sehr wirksam sind und daß Hitze die Wirksamkeit der Bakterien zerstört. Kürzlich veröffentlichte auch H. Much, dem meine frühere Mitteilung unbekannt geblieben zu sein scheint, Untersuchungen über den Einfluß der Bakterien auf die Blutgerinnung (diese Zeitschr. 14, 143, 1908). Auch dieser Autor fand Staphylococcuskulturen besonders wirksam. Er identifiziert die aktiven Bakteriensubstanzen mit den Kinasen von Morawitz und meint, daß die Existenz solcher, die Blutkoagulation beeinflussender bakterieller Substanzen gegen die spezifische Adaptation der Gewebskoaguline spreche. Dieser Schluß ist ebenso unzulässig, wie wenn man aus der Existenz ähnlicher Wirkungen im Falle von Fremdkörpern oder von Pepton einen ähnlichen Schluß zöge, oder wie wenn man behaupten wollte, daß das Vorhandensein spezifischer Agglutinine nicht erwiesen sei, da ja die verschiedensten Kolloide Agglutination herbeiführen können.

Ich zeigte aber, daß die Gewebskoaguline unabhängig von beigemischtem Blut im Muskel vorhanden sind und daß wir bei Wirbellosen wie bei Wirbeltieren gewisse Verschiedenheiten zwischen Blut- und Gewebskoagulinen finden, welche die Annahme der chemischen Nichtidentität beider Substanzen nahelegen. Die Unterschiede zwischen diesen beiden Koagulinen zeigen trotz einer möglichen Verschiedenheit in der Wirkungsweise und ihrer Funktion bei der Blutgerinnung bei Wirbeltieren einerseits und Wirbellosen andererseits, doch bei beiden Tierklassen eine auffallende Übereinstimmung, und bei beiden Tierklassen sind diese beiden Substanzen für die Bildung des Fibrins von wesentlicher Bedeutung.

Bei gewissen Wirbellosen läßt sich der Nachweis führen, daß die sogenannte erste Gerinnung unabhängig von einer Ausscheidung von Fibrin stattfinden kann, und daß es sich hierbei um eine Agglutination von Zellen handelt, die auf Veränderungen der Konsistenz des Zellprotoplasmas und möglicherweise auch auf der Mitwirkung gewisser, vielleicht aus den Zellen stammender Kolloide beruht.

Eine ähnliche Veränderung von Zellen mit folgender Agglutination geht der eigentlichen Gerinnung allgemein bei Wirbellosen und Wirbeltieren voran, und diese Veränderungen führen bei Crustaceen und sehr wahrscheinlich auch bei Wirbeltieren zur Ausscheidung von Blutkoagulinen. Diese Bildung von „Zellfibrin" bei Wirbellosen ist phylogenetisch die Vorstufe der Thrombose, wie sie sich bei Wirbeltieren bei pathologischen Vorgängen in den Gefäßen findet.

Die sogenannte zweite Gerinnung bei Limulus beruht auf der Ausscheidung von Substanzen, die aus den Blutzellen stammen.

Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung thermischer Einflüsse auf die verdauende Kraft des Magen- und Pankreassaftes.

Von

H. Roeder.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Kgl. Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 18. Februar 1910.)

Mit 2 Figuren im Text.

Bekanntlich hängt die spezifische Tätigkeit der Verdauungsfermente des Magen- und Pankreassaftes vor allem von drei Faktoren ab: einmal von der Reaktion der Verdauungsflüssigkeit und ihrer sonstigen Zusammensetzung (Antifermente, Salze usw.), zweitens von der Fermentkonzentration und drittens von der Temperatur. Hinsichtlich der Reaktion verhalten sich die Verdauungsenzyme im allgemeinen verschieden. So verdaut das Ferment des Speichels, das Ptyalin bei alkalischer, das Pepsin des Magensaftes bei saurer Reaktion, das Trypsin des Pankreassaftes vorwiegend bei alkalischer Reaktion, und zwar bestimmt besonders der Grad der Reaktion die verdauende Wirkung. Die Fermentkonzentration galt schon nach den Untersuchungen von Maly[1]), Brücke[2]) und Kühne[3]) als wichtig für die Stärke der verdauenden Kraft. Die Temperatur ist bei den bisherigen Untersuchungen über die Verdauungsenzyme des Magen- und Pankreassaftes etwas zu kurz gekommen, namentlich fehlen in der Literatur eingehendere Untersuchungen über den Ablauf der Verdauung bei verschiedenen

---

[1]) Handb. d. Physiol. von Hermann 5, Abt. 2, 83 bis 84.

[2]) Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. Wien, 37.

[3]) Zeitschr. f. Biol. 22

Temperaturen und über die Wirkung thermischer Einflüsse auf die Fermente selbst.

Wohl existieren Arbeiten, die derartige Verdauungsversuche enthalten, im wesentlichen haben sie aber das Verhalten, insbesondere die Widerstandsfähigkeit der Fermente des Magen- und Pankreassaftes gegenüber thermischen Einflüssen zum Gegenstand. So hatte insbesondere Biernacki[1]) fast nur die Resistenz des Pepsins und Trypsins gegenüber Temperatureinflüssen geprüft, ohne gleichzeitig bei den verschiedenen Wärmegraden methodische Verdauungsversuche anzuschließen. Er kam aber bereits hinsichtlich der Resistenz zu Resultaten, die für die Anstellung jeder Art von Verdauungsversuchen Beachtung verdienen. Seine Beobachtungen beziehen sich zum Teil auf das Verhalten isolierter Enzyme, andererseits aber auch auf das Verhalten der Enzyme im Verdauungssaft. Im letzteren Falle erwiesen sich die Enzyme Temperatureinflüssen gegenüber als resistenter, als wenn das reine Enzym der Temperaturerhöhung ausgesetzt wurde. Ferner kommt es nach ihm für die Verdauungsfermente — Pepsin und Trypsin — vor allem darauf an, bei welcher Reaktion dieselben der Erhitzung unterworfen werden. Biernacki fand, daß die betreffende Reaktion, die für die beste Entfaltung der spezifischen Leistungsfähigkeit dieser Enzyme notwendig ist — die saure für das Pepsin, die alkalische für das Trypsin — dieselben zugleich vor dem schädigenden Einflusse eines gewissen Wärmegrades schützt. Die das Pepsin oder Trypsin enthaltenden Verdauungssäfte werden in neutraler Lösung durch niedrigere Temperaturen geschädigt als in der sauren bzw. in der alkalischen Lösung. Daher sind auch diejenigen Temperaturen, bei denen Biernacki das Pepsin in neutraler Lösung zerstört fand — 55° C für das erstere, 45° C für das letztere —, niedriger als die von anderen Autoren früher angegebenen Zahlen. So gibt Krukenberg an, daß das Trypsin durch die Erhitzung auf 65 bis 70° zugrunde gehe, während das Pepsin nach Finkler bei 70° zerstört wird. Aber nicht nur die Isolierung des Fermentes und seine Auflösung in der Verdauungsflüssigkeit, auch nicht die Art der Reaktion bestimmt allein den schädigenden Einfluß gewisser Wärmegrade, sondern auch die Anwesenheit von Salzen und Eiweißkörpern im Verdauungssekret. Biernacki beobachtete, daß verschiedene Substanzen die Resistenz der Verdauungsenzyme gegen die Erhitzung zu heben imstande sind, für das Pepsin namentlich bestimmte Salze, wie schwefelsaures Natron, schwefelsaures Ammonium, die Eiweißkörper, Albumosen und Peptone und für das Trypsin ganz besonders die Ammoniaksalze. Die Anwesenheit dieser bedinge einmal den Wärmegrad des Temperaturoptimums, bei denen das Pepsin und Trypsin am besten proteolytisch wirkt, andererseits besitzen dieselben die Eigenschaft, auch die Resistenz der Enzyme gegen die Erhitzung zu heben. Ein gleiches beobachtete er von dem Zucker und der Stärke nicht. So wertvoll diese Mitteilungen von Biernacki sein mögen, so dürften doch die Untersuchungen zweier anderer Autoren, von

[1]) Zeitschr. f. Biol. 28.

Mayer[1]) und Klug[2]), über das Verhalten des Pepsins bei höheren Temperaturen für unsere Frage nach der Bedeutung thermischer Einflüsse für die verdauende Kraft des Pepsins und Trypsins vielleicht ein größeres Interesse beanspruchen. Sie berücksichtigten weniger die Resistenz, sie prüften vielmehr die peptische Kraft des Magensaftes bei Temperaturerhöhungen und hatten eine große Reihe von Verdauungsversuchen angestellt. Überdies hatten sie unabhängig voneinander fast gleiche Versuchsbedingungen gewählt, eine fast gleiche Fermentkonzentration und Reaktion. Beide Untersucher benutzten nicht nativen Magensaft, sondern arbeiteten mit Saft, der von der Magenschleimhaut eines Schweines oder Hundes durch Freipräparieren und Übergießen mit Glycerin gewonnen war. Die Schleimhaut wurde lange Zeit in dieser Weise behandelt, danach filtriert und das Filtrat mit Alkohol versetzt. Als Verdauungsobjekt hatten sie Hühnereiereiweiß gewählt, das in Capillaren koaguliert war. Die Verdauungsflüssigkeit enthielt z. B. bei Klug 0,1% Pepsin bei 0,6% Salzsäure.

Aus den Versuchen von Mayer und Klug erfahren wir zum ersten Male, in welcher Weise die verdauende Kraft des Pepsins durch thermische Einflüsse unterhalb und oberhalb 37° bestimmt wird, bei welchen Wärmegraden das verdauende Pepsin seine Wirkung zu entfalten aufhört und wann es völlig zerstört wird. Die durch Hoppe-Seyler, Hammarsten und andere Physiologen vertretene Anschauung, daß es ein absolutes Temperaturoptimum der Verdauung gäbe und daß dasselbe bei 40° C liege, wird durch die Beobachtung von Mayer und Klug als nicht zutreffend erwiesen. Die beiden Autoren untersuchten die Kraft des verdauenden Pepsins innerhalb weiter Temperaturgrenzen und wählten besonders die Temperaturen von 35 bis 55°. Eine eingehende Analyse ergab, daß das Optimum der Verdauung keineswegs bei 38 oder 40° liege; sie fanden vielmehr, daß die peptische Wirkung oberhalb 40° sogar weiter ansteigt und daß zwischen 50 und 55° noch ein anderes Optimum der Verdauung zu liegen scheint. Bei diesen Temperaturen wird nach Mayer und Klug erheblich mehr verdaut als zwischen 35 und 40°. Auffallen muß es, daß dieser gegenüber den allgemeinen Anschauungen gänzlich abweichende Befund nirgends in der Literatur noch auch in Handbüchern zitiert, und nur in dem trefflichen Buch: „Die Fermente" von Oppenheimer[3]) kurz gestreift wird. Es seien daher, weil

[1]) Zeitschr. f. Biol. 17.
[2]) Pflügers Archiv 16.
[3]) Oppenheimer, Die Fermente. Leipzig 1903.

wichtig zum Verständnis unserer ganzen Frage, zwei Versuchsreihen von Adolf Mayer an dieser Stelle wiedergegeben:

Verdauungsproben, bestehend aus 0,012 g Pepsin mit Wasser, das mit $1^1/_2$ %iger rauchender Salzsäure versetzt war, auf $2^1/_2$ ccm gebracht und darin die kleinen Eiweißstückchen von allezeit gleicher Größe eingelegt (8 mg). Die Eiweißstückchen wurden auf eine größere Anzahl von Reagierzylinderchen in der gewonnenen Pepsinlösung verteilt. Dieselben wurden in ein Wasserbad bei entsprechender Temperatur eingesetzt, die Dauer bis zur völligen Verdauung wurde konstatiert, und ich möchte dieselbe aus der dortigen Versuchstabelle hier anführen:

Verdauungs-Temperatur	Zeit bis zur völligen Verdauung
20°	in 19 St. noch nicht verdaut
24°	in 19 St. noch nicht verdaut
28°	in 19 St. noch nicht verdaut
32°	in 19 St. noch nicht verdaut
36°	15 St. 9 Min.
40°	18 „ 19 „

Nach dieser Versuchsreihe, in der übrigens die zugesetzte Salzsäuremenge eine für die Verdauung nicht besonders günstige war, wäre etwa 36° C die günstigste Temperatur für die Pepsinwirkung.

Die zweite Versuchsreihe von Adolf Mayer soll uns den Anstieg der Pepsinwirkung unter dem Einfluß der Temperaturerhöhungen kurz veranschaulichen. In diesem Versuch wurde mit einer passenderen Menge (0,5 %iger rauchender) Salzsäure und bei etwas höheren Temperaturen verdaut. Die Verdauungsflüssigkeit betrug in jedem Zylinderchen 2 ccm. Der Versuch gab folgende Resultate:

Temperatur	Dauer bis zur völligen Verdauung
35°	7 St. 50 Min.
40°	6 „ 10 „
45°	4 „ 45 „
50°	3 „ 40 „
55°	3 „ — „

Hiernach sind wenigstens bis 55° C (wenige Grade darüber erlischt die Fermentkraft des Pepsins) die Wirkungen desselben mit dem Anstieg der Temperatur ebenfalls ansteigende.

In ähnlicher Weise hatte auch Klug in seinen ausgedehnten Untersuchungen gefunden, daß das Verdauungsvermögen des Pepsins mit dem Steigen der Temperatur an Lebhaftigkeit zunimmt und je nach den Bedingungen das Maximum zwischen 50 und 55° erreicht.

Diese Beobachtungen der beiden Autoren erscheinen in hohem Maße beachtenswert, und ich konnte nicht unterlassen, ihre Ergebnisse mit einigen Worten meinen eigenen Untersuchungen voranzuschicken. Hinsichtlich der Resistenz des Pepsins im Magensaft kamen übrigens beide Untersucher gleichfalls zu einem übereinstimmenden Resultat. Sie fanden, daß das Pepsin im Verdauungsversuch unter den von ihnen gewählten Versuchsbedingungen oberhalb 60° C fast völlig zerstört wird, daß also die Temperatur von 60° C, wie Mayer sagt, in gewissem Sinne als die „Tötungstemperatur“ des Fermentes aufzufassen sei.

Nun sind allerdings jene Resultate bei sehr langdauernden Verdauungsversuchen festgestellt worden. Die Verdauung dauerte in einzelnen Versuchen 6 bis 10 bis 18 Stunden; immerhin verdient das Ergebnis dieser Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur auf die Kraft des verdauenden Pepsins eingehende Berücksichtigung und dürfte auch für die Beurteilung weiterer Untersuchungen nicht ohne Bedeutung sein. Es schien mir nun wichtig, die Wirkung thermischer Einflüsse innerhalb der von den beiden Autoren gewählten Temperaturbreite auch in kürzer dauernden Versuchen zu prüfen, um im Interesse eines besseren Verständnisses der Eiweißverdauung die Lage des Temperaturoptimums genauer festzustellen. Namentlich erscheint es für unsere Kenntnis der Biologie der Verdauungsfermente wichtig, ihr Verdauungsvermögen und ihr Verhalten unter der Wirkung thermischer Einflüsse noch eingehender zu untersuchen. Ist doch insbesondere der Magensaft nahe am Eingang des Digestionskanals sehr wechselnden Temperaturen, niedrigen und hohen Temperaturen der aufgenommenen Speisen ausgesetzt. Es ergibt sich da die Frage, ob die Eiweißverdauung unter der Einwirkung höherer und niedrigerer Wärmegrade oberhalb oder unterhalb der Körpertemperatur gelegener Temperaturen verändert oder ob das Enzym der Verdauungssäfte selbst bei

den für die Magen- und Pankreasverdauung in Betracht kommenden Temperaturen geschädigt wird.

Von diesem Gesichtspunkt aus unterzog ich die Verdauungskraft des Pepsins und Trypsins einer sorgfältigen Untersuchung und stellte unter Anwendung verschiedener Temperaturen und im übrigen verschiedener Versuchsbedingungen mehrere Reihen von Verdauungsversuchen an.

Ich hatte früher bereits vor dem Bekanntwerden der neuen Methoden für die quantitative Pepsinbestimmung nach Fuld, Jacoby u. a. einige Versuche gemacht, die folgendermaßen angestellt waren:

100 g Casein (bezogen aus der chemischen Fabrik Rhenania, Aachen) wurden bei 100° C erhitzt und nachher im Exsiccator getrocknet. Für jeden Versuch wurden je 3 g Casein in einem Kölbchen mit 60 ccm destilliertem Wasser und 20 ccm Magensaft versetzt. Der Magensaft stammte von einem Hund, dem nach der Pawlowschen Methode ein Magenblindsack angelegt war. Vor dem Beginn der Versuche wurde so viel Magensaft gesammelt, daß die Menge für eine große Zahl von Untersuchungen reichte und ich mit andauernd konstantem Material arbeiten konnte. Der Magensaft wurde mit einigen Tropfen Toluol versetzt und ständig auf Eis aufbewahrt. Das aus Casein, destilliertem Wasser und Magensaft in der angegebenen Weise hergestellte Gemisch wurde gut durcheinander geschüttelt, fest verschlossen und in ein auf eine bestimmte Temperatur eingestelltes Wasserbad auf 2 Stunden gebracht. Nach Beendigung des Versuches wurde, um eine weitere Wirkung des Pepsins auszuschalten, das Verdauungsgemisch kurze Zeit auf einem heißen Wasserbad erhitzt; dann wurde das durch Säure koagulable Eiweiß von den löslichen Bestandteilen abfiltriert. Von dem Filtrat wurde der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl bestimmt und aus der gewonnenen Zahl der Prozentgehalt des in Lösung gegangenen Eiweißes berechnet.

Die mit dieser Methode gewonnenen Resultate, die ich in einer früheren Arbeit[1]) veröffentlichte, schienen mir deshalb einer Kontrolle bedürftig, weil vielleicht bei der Verwendung größerer Mengen von natürlichem Magensaft Faktoren in unübersehbarer Weise die reine Pepsinwirkung zu beeinträchtigen vermöchten, die beim Arbeiten mit geringen Mengen Saft in größerer Verdünnung sich nicht bemerkbar machten. In der Tat zeigte sich denn auch, daß der Abfall der Verdauungskurve, den ich bei jenen älteren Versuchen zwischen 36 und 42° C beobachtete, ausblieb, und daß die Ergebnisse meiner

[1]) H. Roeder, Arch. f. Kinderheilk. 46, Heft 3/6.

neueren Untersuchungen durchaus mit denjenigen, die Mayer und Klug (l. c.) mitteilen, konform gehen.

Wenn man in der üblichen Weise Verdauungsversuche bei verschiedenen Temperaturen anstellt und die Ergebnisse in einer Kurve vereinigt, so ist diese Kurve die Resultante aus zwei verschiedenen Faktoren: 1. aus der Temperaturwirkung auf die Verdauungsarbeit, 2. aus der Temperaturwirkung auf die Vitalität des Pepsins.

Um die Richtigkeit dieser Annahme durch weitere biologische Untersuchungen zu erhärten, stellte ich eine Reihe von Untersuchungen an, in denen ich einmal die durch thermische Einflüsse erfolgende Steigerung des Verdauungsvermögens, andererseits den durch höhere Temperaturen herbeigeführten Fermentverlust getrennt nachzuweisen suchte.

Ich wählte hierzu die von Fuld und Levison[1]) für die Pepsinbestimmung angegebene Edestinmethode.

Die Mettsche[2]) Methode konnte für meine Versuche nicht in Betracht kommen, weil dieselbe hinsichtlich der Bestimmung der peptischen Kraft des Magensaftes nicht das leistet, was man von ihr erwartet hatte. Um nur einige der wesentlichen Einwände für dieses Verfahren anzugeben, sei hervorgehoben, daß das Hühnereiweiß in den Capillaren nicht immer von gleicher Konsistenz ist und die Verdaulichkeit der Eiweißsäulen um so größer ist, je weicher sie sind. Wenngleich auch die Koagulationstemperatur und -dauer genau vorgeschrieben sind, sind hier Unterschiede unvermeidlich; ferner wechselt die Wandstärke der Capillaren; außerdem ist die Voraussetzung, daß ein Ei dem andern gleich sei, gar nicht zu erfüllen. Im Gegenteil haben Blum und Fuld[3]) darauf hingewiesen, daß die Verschiedenheit des Geschmackes der Eier in verschiedener Jahreszeit mit aller Deutlichkeit anzeigt, daß ihre Zusammensetzung von der zufälligen Ernährungsweise der Hühner abhängt. Ein besonders schwerer Mangel aber macht die Mettsche Methode für meine Untersuchungen unbrauchbar. Die Länge der verdauten Eiweißsäulen gestattet keinerlei Rückschluß auf die Fermentkonzentration, denn die Verdünnungen desselben wirken durchaus nicht entsprechend der Berechnung weniger stark, sondern die Abnahme erfolgt von Fall zu Fall ganz verschieden. Schiff und Nierenstein[4]), die diese Verhältnisse genau studierten, schlugen daher vor, nicht den unverdünnten Magensaft zu benutzen, sondern dessen 16fache Verdünnung. Blum

[1]) Diese Zeitschr. 6, 473, 1907.

[2]) Mett, zit. nach Pawlow, Die Arbeit der Verdauungsdrüsen, deutsch von Walter. Wiesbaden 1896, S. 31.

[3]) Zeitschr. f. klin. Med. 58, H. 5/6.

[4]) Arch. f. Verdauungskrankheiten 8, 559.

und Fuld, die die weiteren Gründe für die eigentümliche Verdauungshemmung im konzentrierten Magensaft bei Anwendung der Mettschen Methode festzustellen suchten und dieselbe auf eine eigene Substanz, das Antipepsin, zurückführen konnten, kamen zu der Auffassung, daß dessen Wirkung ermöglicht oder wenigstens verstärkt würde durch die geringere Oberfläche, die das koagulierte Eiweiß, und zumal das der Mettschen Eiweißzylinder, der Verdauungsflüssigkeit darbietet. Die Gegenwart des Antipepsins, wie es sich kundgibt durch die Differenz der nach der Mettschen Methode mit Verdünnung des Magensaftes wirklich gefundenen von den berechneten Werten, ließ es daher wünschenswert erscheinen, eine feinere und empfindlichere Methode der Pepsinbestimmung zu besitzen, bei der die Anwesenheit des Antipepsins sich nicht störend bemerkbar macht.

Die genannten Autoren haben in einer diesem Antipepsin gewidmeten Studie besonders betont, daß derartige Störungen sich vermeiden lassen, wenn man zur Anwendung gelösten Eiweißes statt des koagulierten überging. Nach ihren Erfahrungen war also eine einheitliche flüssige Verdauungsmischung notwendig. Dieser Bedingung entsprach übrigens in gewisser Beziehung die Methode von Hammerschlag; sie arbeitete auch mit einer Eiweißlösung, benutzte indes das, wie wir sahen, in seiner Zusammensetzung so wechselnde Hühnereiweiß. Ihre Ausführung war außerdem, wegen Benutzung des Esbachschen Reagens, einerseits mit Ungenauigkeiten behaftet, andererseits sehr langwierig. Erheblich besser ist eine Methode, die Vollhard[1]), ausgehend von Arbeiten anderer Forscher, angegeben hat, und die ebenso wie die Hammerschlagsche[2]) Methode auf einer Bestimmung des unveränderten Eiweißrestes beruht. Aber auch die Vollhardsche Methode ist mit größeren Umständlichkeiten verknüpft und erfordert vor allem Filtration und Titration. Fuld war daher bestrebt, ein Verfahren zu finden, das von einem gelösten Eiweißkörper ausging und in der Ausführung so einfach wie möglich war. Da die als löslich bezeichneten und bei ähnlichen Untersuchungen angewandten Eiweißpräparate sich in Wirklichkeit nur teilweise auflösen, so wählte Fuld das Edestin als einen wohldefinierten, in schwacher Säure klar löslichen Eiweißkörper. In einer ähnlichen, von der gleichen Voraussetzung ausgehenden Methode hatten Jacoby[3]) und Solms[4]) an die Stelle des variablen animalen Eiweißes ein möglichst konstantes chemisches Präparat, das Ricin, zu setzen gesucht. Ich entschied mich für meine Untersuchungen für die von Fuld angegebene Methode.

Die Ausführung der Fuldschen Methode war folgende:

0,1 g von dem käuflichen Edestin (das krystallisierte Eiweiß des Hanfsamens) wird abgewogen und unter Umrühren in folgender Mischung

---

[1]) Vollhard, Münch. med. Wochenschr. 1903, Nr. 49.

[2]) Hammerschlag, Intern. klin. Rundschau 1895, Nr. 39 (zit. nach Maly).

[3]) Diese Zeitschr. 1906/07.

[4]) Zeitschr. f. klin. Med. 64, H. 1 u. 2.

aufgelöst: 70 ccm Wasser und 30 $^n/_{10}$-HCl werden zum Teig angemacht. Alsdann werden von dem zu untersuchenden Magensaft 10fache und 100fache Verdünnungen hergestellt. Man nimmt 0,5 ccm des Saftes auf 4,5 ccm der angegebenen Salzsäuremischung. Dies ist die 10fache Verdünnung. Von hier nimmt man wieder mit einer in Kubikzentimeter eingeteilten 10 cm-Pipette 0,5 ccm auf 4,5 ccm der Salzsäuremischung, so daß eine 100fache Verdünnung des Magensaftes entsteht. Es ist nicht nötig, den Magensaft selbst zu prüfen, außer in Fällen, wo freie Salzsäure fehlt. Nun füllt man von den zu untersuchenden Verdünnungen abnehmende Mengen, 6 oder 9, in Reagensröhrchen, am besten mit der Lichtweite 1,2 cm; und zwar wählt man nach Fuld die Einzelmengen in einer Abstufung nach den Wurzeln aus 10. Die Wahl der natürlichen Zahlen erscheint nicht rationell. Die Abstufung der abnehmenden Mengen war

bei 6 Röhrchen: 1,0 0,65 0,4 0,25 0,15 0,1,
" 9 " 1,0 0,67 0,56 0,42 0,32
0,24 0,18 0,13 0,1.

Nachdem die Gläser so vorbereitet waren, werden in jedes Röhrchen 2 ccm der frisch hergestellten Edestinlösung gefüllt. Die Eintragung des Edestins dauert nur etwa 1 Minute, und wenn man in derselben Reihenfolge, die man beim Pipettieren der Magensaftverdünnung einhielt (am besten beginnend bei der Verdünnung mit dem stärksten Pepsingehalt), nachher auch zur Verhütung weiterer Verdauung in den einzelnen Röhrchen mit dem von Fuld gewählten Ammoniak überschichtet, so resultiert kein irgendwie in Betracht kommender Fehler.

Die Röhrchen ließ ich, den Angaben Fulds gemäß, bei jeder der gewählten Temperaturen 30 Minuten im Wasserbad verdauen. Nach Ablauf dieser Zeit nahm ich das Drahtgestell mit sämtlichen Röhrchen auf einmal aus dem Wasserbad und überschichtete in der genannten Reihenfolge aus einer Pipette mit $^1/_2$ ccm Ammoniak. Zusatz einer konzentrierten NaCl-Lösung anstatt des Ammoniaks ist gleichfalls zulässig und gibt dieselben Resultate. In denjenigen Röhrchen, die kein unverdautes Edestin mehr enthielten, blieb die Verdauungslösung vollständig klar, in den Röhrchen, wo ein Edestinrest vorhanden, zeigte sich an der Berührungsstelle des Ammoniaks die Bildung eines mehr oder weniger deutlichen Eiweißringes. Am besten konnte ich nach der Überschichtung die Grenze in den einzelnen Proben in auffallendem Licht vor einem schwarzen Hintergrund erkennen. Ich notierte nun die pepsinärmste Probe, die die Bildung des Ringes vermissen läßt, und konnte daraus die Stärke des Magensaftes berechnen. Diese Berechnung erfolgte in der Weise, daß die Menge von Pepsinlösung bzw. Magensaft, die die Probe enthielt, durch das Produkt aus deren Verdünnung und der Anzahl Kubikzentimeter Edestinlösung, die er verdaut hatte, dividiert wurde. Wenn also z. B. von der 20fachen Verdünnung des Magensaftes 0,25 ccm eben hinreichten, um das Auftreten des Ringes in 2 ccm Edestinlösung zu verhindern, so war die gesuchte Zahl 0,25 dividiert durch 20 mal 2 oder 1:160. Man könnte somit den Magensaft als ein Pepsin 1:160 bezeichnen, wie dies bei den Labpräparaten auch üblich ist, oder man

könnte auch sagen: der Saft ist 160fach. In ähnlicher Weise haben Wohlgemuth und Roeder[1]) nach Mettversuchen die Lab- und Pepsineinheiten des kindlichen Magensaftes berechnet.

Bei Anwendung der gesättigten Kochsalzlösung erkennt man das Vorhandensein eines unverdauten Eiweißrestes an einer mehr oder weniger ausgesprochenen Trübung, während die völlig unverdauten Röhrchen klar bleiben. Wo in dem einzelnen Verdauungsversuch die pepsinärmste Probe ohne Trübung war, war die Stärke des Saftes in der angegebenen Weise zu berechnen und der Einfluß der Temperatur auf seine verdauende Kraft zu erkennen. Der Magensaft, den ich benutzte, stammte von derselben Menge, die vor Beginn der ersten Versuchsreihe gesammelt und mit Toluol versetzt auf Eis gehalten war.

In der ersten Gruppe der nach der Fuldschen Methode ausgeführten Untersuchungen suchte ich festzustellen, ob sich die bei höheren Temperaturen von Mayer und Klug gefundene Steigerung des Verdauungsvermögens bestätigt. Für jeden Versuch im Wasserbad führte ich einen Kontrollversuch aus. Wegen der vollständigen Übereinstimmung der korrespondierenden Versuche erscheint die Ausführung je eines Versuches als ausreichend.

1. Verdauungsversuch bei 30°.

Versuchsdauer 12h 36′ bis 1h 6′ = 30′.
10fache Verdünnung des Magensaftes: 0,5 Magensaft: 4,5 Salzsäurelösung.

10fache Verdünnung:		
1 = 1,0		
2 = 0,67		
3 = 0,56	(Grenze)	
4 = 0,42	—	unverdauter Edestinrest
5 = 0,32	—	unverdauter Edestinrest
6 = 0,24	—	unverdauter Edestinrest
7 = 0,18	—	unverdauter Edestinrest
8 = 0,13	—	unverdauter Edestinrest
9 = 0,1	—	unverdauter Edestinrest

2. Versuch bei 34°.

12h 40′ bis 1h 10′.

10fache Verdünnung:	
1 = 1,0	
2 = 0,67	
3 = 0,56	
4 = 0,42	(Grenze)
5 = 0,32	—
6 = 0,24	—
7 = 0,18	—
8 = 0,13	—
9 = 0,1	—

3. Versuch bei 37°.

30′.

10fache Verdünnung:	
1 = 1,0	
2 = 0,67	
3 = 0,56	
4 = 0,42	
5 = 0,32	
6 = 0,24	(Grenze)
7 = 0,18	—
8 = 0,13	—
9 = 0,1	—

4. Versuch bei 40°.

30′.

10fache Verdünnung:	
1 = 1,0	
2 = 0,67	
3 = 0,56	
4 = 0,42	
5 = 0,32	
6 = 0,24	
7 = 0,18	(Grenze)
8 = 0,13	—
9 = 0,1	—

[1]) Wohlgemuth und Roeder, diese Zeitschr. 1906.

5. Versuch bei 45°.

30′.

10 fache Verdünnung:	1 = 1,0	
	2 = 0,67	
	3 = 0,56	
	4 = 0,42	
	5 = 0,32	
	6 = 0,24	
	7 = 0,18	
	8 = 0,13	— (Grenze)
	9 = 0,1	—

6. Versuch bei 50°.

30′.

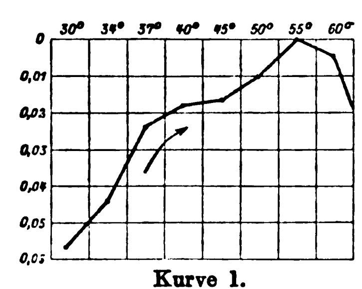
10 fache Verdünnung:	1 = 1,0	
	2 = 0,67	
	3 = 0,56	
	4 = 0,42	
	5 = 0,32	
	6 = 0,24	
	7 = 0,18	
	8 = 0,13	(Grenze)
	9 = 0,1	—

7. Versuch bei 55°.

30′.

10 fache Verdünnung:	1 = 1,0	alles verdaut
	2 = 0,67	
	3 = 0,56	
	4 = 0,42	
	5 = 0,32	
	6 = 0.24	
	7 = 0.18	
	8 = 0,13	
	9 = 0,1	

Betrachten wir diese Versuche ein wenig näher, so sehen wir bei denjenigen Temperaturen, die oberhalb der Körpertemperatur von 37° C liegen, mehr verdaut als bei den Versuchen unterhalb der Körpertemperatur. Während bei 37° C 0,24 des 10fach verdünnten Magensaftes notwendig waren, um 2 ccm Edestinlösung zu verdauen, so waren bei 40° C 0,18, bei 50° C 0,13 10fach verdünnten Magensaftes dazu ausreichend.



Kurve 1.

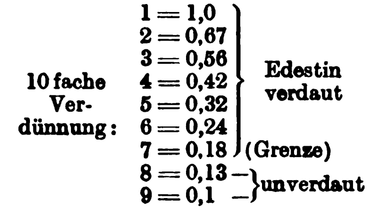
Die peptische Kraft des Magensaftes steigt hier also unter dem Einfluß der Temperatur kontinuierlich an, und zwar in der Temperaturbreite von 37 bis 50° C um fast 50 %. Die nebenstehende Kurve (Kurve 1) läßt den Anstieg der peptischen Wirkung des Magensaftfermentes bei ansteigender Temperatur deutlich erkennen.

Die zweite Gruppe dieser Untersuchungen führte ich mittels der Fuldschen Methode aus, um zu prüfen, ob bei Verdauungsversuchen oberhalb 36° C auch eine Schädigung des

Fermentes zustande kommt und in welcher Weise dieselbe die verdauende Kraft des Pepsins zu beeinträchtigen imstande ist; hierzu suchte ich die Frage zu beantworten, wie sich der Einfluß einer höheren Temperatur auf das Ferment bei Abwesenheit des Eiweißes gestaltet und sich in einem z. B. bei 37 oder 38° C anschließenden Verdauungsversuch ausspricht. Es erfolgt in den einzelnen Versuchen zuerst die Vorerwärmung oder Erhitzung des anzuwendenden Magensaftes. Die Erhitzung dauerte in jedem Fall 30 Minuten. Der darauf folgende Verdauungsversuch wurde in allen Fällen bei ein und derselben Temperatur, und zwar bei 37° ausgeführt. Da bei dem Titerversuch mit unverdünntem Magensaft die Grenze bei 1,0 gefunden wird, wird eine Magensaftverdünnung gewählt von 0,5:4,5 (10fach).

1. Verdauungsversuch bei 37° C in 9 Röhrchen.

Versuchsdauer 30′.



10fache Verdünnung:

1 = 1,0 }
2 = 0,67 }
3 = 0,56 }
4 = 0,42 } Edestin verdaut
5 = 0,32 }
6 = 0,24 }
7 = 0,18 } (Grenze)
8 = 0,13 — }
9 = 0,1 — } unverdaut

2. Versuch bei 40° C.

Der Magensaft wird bei 40° C vorerwärmt, 30′.

Herstellung der 10fachen Magensaftverdünnung. Auffüllen der Röhrchen mit Edestin wie zuvor angegeben, nachfolgender Verdauungsversuch bei 37°.

10fache Verdünnung:

1 = 1,0
2 = 0,67
3 = 0,56
4 = 0,42
5 = 0,32 (Grenze)
6 = 0,24 —
7 = 0,18 —
8 = 0,13 —
9 = 0,1 —

3. Versuch bei 42° C.

Erwärmen des Magensaftes bei 42° im Wasserbad, 30′.

Davon 10fache Verdünnung: 0,5:4,5. Verdauungsversuch bei 37°.

10fache Verdünnung:

1 = 1,0
2 = 0,67
3 = 0,56
4 = 0,42 (Grenze)
5 = 0,32 —
6 = 0,24 —
7 = 0,18 —
8 = 0,13 —
9 = 0,1 —

4. Versuch bei 43°.

Erwärmen des Magensaftes bei 43° im Wasserbad.

Verdauung bei 37°, 10fache Verdünnung.

10fache Verdünnung:

1 = 1,0
2 = 0,67 (Grenze)
3 = 0,56 —
4 = 0,42 —
5 = 0,32 —
6 = 0,24 —
7 = 0,18 —
8 = 0,13 —
9 = 0,1 —

5. Versuch bei 45° C.

Erwärmen des Magensaftes bei 45° im Wasserbad, 30′.

Davon 10fache Verdünnung 0,5:4,5.

Verdauung bei 37°, 30′.

10fache Verdünnung:	1 = 1,1 (Grenze)
	2 = 0,67 —
	3 = 0,56 —
	4 = 0,42 —
	5 = 0,32 —
	6 = 0,24 —
	7 = 0,18 —
	8 = 0,13 —
	9 = 0,1 —

6. Versuch bei 50° C.

Erwärmen des Magensaftes bei 50° C im Wasserbad, 30′.

Da bei 45° C die Grenze bei 1,0 gewesen, wird für die nächsten beiden Versuche eine 5 fache Verdünnung des Magensaftes benutzt (1:4). Der reine Magensaft wird erhitzt bei 50° C, danach erfolgt die Verdünnung. Verdauung bei 37° C, 30′.

5fache Verdünnung:	1 = 1,0	
	2 = 0,67 (Grenze)	
	3 = 0,56 —	unverdautes Edestin
	4 = 0,42 —	
	5 = 0,32 —	
	6 = 0,24 —	
	7 = 0,18 —	
	8 = 0,13 —	
	9 = 0,1 —	

7. Versuch bei 55° C.

Erhitzen des unverdünnten Magensaftes auf 55° C, 30′.

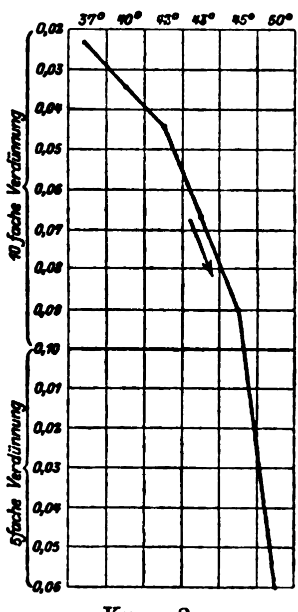
Die Verdünnung wird ebenfalls 5fach genommen (1:4).

Die Verdauung bei 37° C.

5fache Verdünnung:	1 = 1,0 (Grenze)	
	2 = 0,67 —	unverdautes Edestin
	3 = 0,56 —	
	4 = 0,42 —	
	5 = 0,32 —	
	6 = 0,24 —	
	7 = 0,18 —	
	8 = 0,13 —	
	9 = 0,1 —	

Aus dieser zweiten Gruppe der nach der Fuldschen Methode ausgeführten Untersuchungen, zu deren Veranschaulichung ich hier eine Kurve (Kurve 2) beifüge, ergibt sich, daß das Ferment des Magensaftes nach der vorhergehenden Erwärmung auf 40° C oder 42° C, 43° C, 45° C usw. eine derartige **Schädigung erfährt, daß dasselbe in dem nachfolgenden Verdauungsversuch bei 37° C nicht mehr diejenige verdauende Kraft erkennen läßt, die in dem Verdauungsversuch der ersten Reihe bei einer Temperatur von 37° C festgestellt worden war.** In der zweiten Untersuchungsreihe wurde um so weniger verdaut, je höher die Temperatur bei der Vorerwärmung gewesen war. Wir müssen daher den oberhalb 37° C gelegenen Temperaturen die Fähigkeit zuschreiben, das Enzym des Magensaftes in seiner biologischen Wirksamkeit zu schwächen und durch ev. Zerstörung einzelner seiner Elemente zu schädigen. Es ist inter-

essant zu sehen, daß sogar Temperaturen, die nur um geringe Differenzen von der Körpertemperatur von 37° C abweichen, die verdauende Kraft des Pepsins herabsetzen. Während z. B. in dem ersten Verdauungsversuch bei 37° C 0,24 einer 10fach verdünnten Magensaftlösung genügt, um 2 ccm Edestin zu verdauen, zeigt der in gleicher Weise verdünnte Magensaft nach einer 30 Minuten währenden Vorerwärmung bei 40° C im nachfolgenden Verdauungsversuch bei 37° C bereits eine Verminderung der Fermentwirkung. Denn in diesem Versuch war die Grenze bei 0,32, d. h. es war 0,32 des verdünnten Magensaftes nötig, um 2 ccm Edestin zu verdauen. Nachdem die vorhergehende Erwärmung des nächsten Versuchs bei 42° C erfolgt war, waren schon 0,42 der 10fachen Verdünnung zu dem gleichen Verdauungseffekt notwendig. Bei 43° und 45° C schreitet die Verringerung der Fermentwirkung erheblich fort, so daß z. B. nach der Erhitzung des Magensaftes bei 45° C in dem darauf folgenden Verdauungsversuch bei 37° C die Grenze der Pepsinverdauung beim Röhrchen 1 liegt, d. h. erst 1 ccm des 10fach verdünnten Magensaftes ist imstande, das Edestin zu verdauen. Nach der Vorerwärmung bei 55° C sehen wir den 5fach verdünnten Magensaft fast völlig wirkungslos, und wir können auf Grund eines bei anderer Gelegenheit mit reinem unverdünntem Magensaft bei 60° C ausgeführten Kontrollversuches diese Temperatur als die Grenze der gänzlichen Pepsinzerstörung betrachten.



Kurve 2.

Diese beiden nach der Edestinprobe ausgeführten Untersuchungsreihen, in denen ich einmal die durch thermische Einflüsse erfolgende Steigerung des Verdauungsvermögens, andererseits die durch höhere Temperaturen gleichzeitig herbeigeführte Fermentzerstörung getrennt nachzuweisen suchte, lassen erkennen, daß dieser Beweis unter den angewandten Versuchs-

bedingungen als gelungen bezeichnet werden kann. Durch die erste dieser Versuchsreihen wurde die von Mayer und Klug bei höheren Temperaturen beobachtete Steigerung der verdauenden Kraft des Pepsins bestätigt; in der zweiten Versuchsreihe wurde ermittelt, daß bei höheren Temperaturen zu gleicher Zeit eine Schwächung des Fermentes eintritt. Die von mir bei 60° C festgestellte Zerstörung der verdauenden Kraft des Magensaftes stimmt ebenfalls mit dem Befund von Mayer und Klug überein, die diese Temperaturen als „Tötungstemperatur" des Pepsins bezeichnen.

Bevor ich nun zu den Untersuchungen über die Wirkung thermischer Einflüsse auf das Trypsin des Pankreassaftes eingehe, möchte ich noch eine kleine Reihe von Versuchen anführen, die ich vornahm, um zu konstatieren, nach welcher Zeit die schädigende Wirkung höherer Temperaturen an der verdauenden Kraft des Pepsins sich äußert. Während ich in den zuvor besprochenen Untersuchungsreihen die Vorerwärmung des Magensaftes bei Abwesenheit des Edestins 30 Minuten ausdehnte, begnügte ich mich bei diesen Versuchen mit 5, 10 und 15 Minuten. Auch hier benutzte ich Fulds Pepsinbestimmungsmethode. Ich führte diese Versuche mit dem gleichen Hundemagensaft und auch mit kindlichem Magensaft aus.

Den kindlichen Magensaft verdanke ich Herrn Kollegen Erich Müller, der ihn mir in liebenswürdiger Weise zur Verfügung stellte. Der Magensaft stammte von dem Kinde Buzek her, das seinerzeit im Städt. Kaiser und Kaiserin Friedrich-Kinderkrankenhause wegen einer Ösophagusstriktur nach Laugenverätzung von Herrn Prof. Dr. Gluck operiert worden war unter Anlegung einer permanenten Magenfistel. Die im Krankenhause von Sommerfeld und mir[1]) an dem Kinde ausgeführten Untersuchungen sind an anderer Stelle veröffentlicht worden. Das Kind befindet sich in den letzten Jahren in guter Gesundheit in dem Krankenhause zu Rummelsburg in der Beobachtung des Kollegen E. Müller.

Da die Versuche mit Hundemagensaft und dem kindlichen Saft gleiche Resultate ergaben, seien die Versuche mit kindlichem Magensaft angeführt.

---

[1]) P. Sommerfeld und H. Roeder, Untersuchungen über kindlichen Magensaft. Berl. klin. Wochenschr. 1904, 301. — P. Sommerfeld, Arch. f. Kinderheilk. 49, H. 1.

1. Versuch (Testversuch).

Verdünnung des Magensaftes 1:10, eine Reihe von 6 Röhrchen angesetzt; jedes mit 2 ccm Edestin aufgefüllt, Verdauung bei 38 °C. Nach der Verdauung (30 Min.) mit gesättigter Kochsalzlösung überschichtet.

1 = 0,1
2 = 0,65
3 = 0,40
4 = 0,25
5 = 0,15
6 = 0,1 —

2. Versuch.

Verdünnung des Magensaftes 1:10; Vorerwärmung der 6 Röhrchen mit den Magensaftportionen (in abfallender Reihe) bei 40° C, 15 Minuten lang. Nach 15 Minuten Auffüllen mit je 2 ccm Edestin und für 30 Minuten in ein Wasserbad mit 38° C.

1 = 1,0 } klar
3 = 0,65 }
3 = 0,4 — } trübe
4 = 0,25 — } unverdaut
5 = 0,15 — }
6 = 0,1 — }

3. Versuch.

Vorerwärmung der 6 Röhrchen mit 10fach verd. Magensaft in einem Wasserbad von 42° C 5 Min. lang. Nachfolgende Edestinverdauung bei 38° C. Überschichten mit gesättigter Kochsalzlösung.

1 = 1,0 }
2 = 0,65 } klar
3 = 0,4 }
4 = 0,25 — }
5 = 0,15 — } unverdaut
6 = 0,1 — }

4. Versuch.

Vorerwärmung der mit 10fach verd. Magensaft versetzten 6 Röhrchen in einem Wasserbad von 42° C 10 Min. lang. Nachfolgende Edestinverdauung bei 38° C.

1 = 1,0 } klar
2 = 0,65 }
3 = 0,4 — }
4 = 0.25 — } Trübung
5 = 0,15 — }
6 = 0,1 — }

Während hier in dem ersten Versuch nach regelrechter Verdauung im Wasserbad bei 38° C 0,15 des 10fach verdünnten Magensaftes ausreichte, um 2 ccm Edestin zu verdauen, sehen wir in dem zweiten Versuch nach 15 Minuten langer Vorerwärmung bei 40° C in dem nachfolgenden Verdauungsversuch bei 38° C eine erhebliche Verminderung der verdauenden Kraft des Pepsins. Die Grenze ist hier bei 0,65 (zweites Röhrchen); es ist also erst 0,65 des verdünnten Magensaftes imstande, das Edestin zu verdauen. Ähnlich ist die Verminderung des Verdauungseffekts im dritten Versuch, wo bereits eine 5 Minuten lange Vorerwärmung bei 42° C die verdauende Wirkung des Magensaftes so weit herabsetzte, daß in dem nachfolgenden Verdauungsversuch 0,4 der Magensaftverdünnung notwendig waren, um 2 ccm Edestin zu verdauen. Der vierte Versuch, in dem die Vorerwärmung bei 42° C 10 Minuten lang dauerte, ergibt das gleiche Resultat wie der zweite Versuch mit 15 Minuten dauernder Erwärmung bei 40° C. Es ist gewiß bemerkenswert, daß bereits eine 5 Minuten lange Einwirkung der Temperatur von 42° C die biologischen Eigenschaften des Magensaftferments beeinflußt und in dem nachfolgenden Verdauungsversuch eine Schädigung erkennen läßt. Wir hatten oben bereits gesehen, daß Tem-

peraturen, die nur um geringe Differenzen von der Körpertemperatur von 37° C abweichen, in den entsprechenden Versuchen bei einer 30 Minuten dauernden Vorerwärmung eine Schädigung des Magensaftferments zur Folge hatten. Es ist aber um so auffallender, daß bereits Temperaturen, die nur wenig von der Körpertemperatur differieren, wie 40 und 42° C, nach 10 Minuten, ja nach 5 Minuten langer Vorerwärmung eine Verringerung des Verdauungsvermögens herbeigeführt haben.

Aus den Versuchen von Biernacki haben wir erfahren, daß die Resistenz des Pepsins und Trypsins gegenüber den Einflüssen höherer Temperaturen um so größer ist, wenn sie in der Lösung und in der ihnen eigenen Reaktion sich befinden und die Verdauungsflüssigkeit bestimmte Salze oder Eiweißkörper enthält. Wenn nun hier auch die vorhergehende Erwärmung der Verdauungsflüssigkeit in Abwesenheit des Eiweißes erfolgte, so muß diese hohe Empfindlichkeit des Pepsins in der angewandten Lösung (Magensaftverdünnung) und Reaktion gegenüber den Temperaturen von 40 und 42° C überraschen. Eine ähnliche Empfindlichkeit gegenüber thermischen Einflüssen, insbesondere gegenüber Temperaturen, die nur wenig oberhalb der Körpertemperatur liegen, stellten übrigens Camys und Duclaux für das Labferment fest. Sie fanden, daß schon eine kurz dauernde Einwirkung der Temperatur von 40° C das Labferment schädigte.

Die mit dem Pepsin gewonnenen interessanten Resultate regten mich nun an, auch bei einem anderen Verdauungsenzym den Einfluß der Temperatur und die dabei stattfindenden, von verschiedenen Momenten abhängigen Modifikationen zu untersuchen. Ich wandte mich dem Trypsin zu. Auch hinsichtlich dieses Ferments fand ich, wie am Eingang unserer Betrachtung bemerkt, in der Arbeit von Biernacki die Mitteilung von Beobachtungen, die für das Ferment des Pankreassaftes eine gleich hohe, wenn nicht höhere Empfindlichkeit gegenüber thermischen Einflüssen ergeben hatten. Auch für das Trypsin hatte Biernacki konstatiert, daß seine spezifische Tätigkeit nicht nur von der Reaktion und von der Fermentmenge, sondern auch von der Temperatur der betreffenden Verdauungslösung abhängt. Ich untersuchte die Einflüsse der Temperatur auf das Enzym des Pankreas nach einer Modifikation der Edestinprobe, die Fuld für das Trypsin angegeben. In ähnlicher Weise wie bei der Untersuchung des Pepsins verfolgte ich hier das Verhalten der Trypsinverdauung unter Anwendung verschiedener thermischer Einflüsse und suchte auch hier die Frage zu beantworten, in

welcher Weise diese letzteren die verdauende Kraft des Trypsins zu fördern, zu hemmen und das Ferment selbst zu schädigen imstande sind.

Die von Fuld angegebene Versuchsanordnung war folgende: 0,2 g Casein werden in 20 ccm einer $^{n}/_{10}$-NaOH-Lösung erhitzt, danach abgekühlt und auf 100 ccm destilliertes Wasser aufgefüllt. Zufügen von 15 ccm $^{n}/_{10}$-HCl. Die Lösung muß mit Lackmus geprüft werden; 1 ccm Eisessig mit 50 g dest. Wasser und 50 g abs. Alkohol. Diese beiden Arten von Lösungen werden für die Trypsinverdauung verwendet. Man verfährt in folgender Weise: Es werden die durch Testversuch festgestellten 10fachen auf 100fachen usw. Verdünnungen des Pankreassaftes hergestellt. Die Verdünnung geschieht mit physiologischer Kochsalzlösung oder dest. Wasser. Man füllt von den zu untersuchenden Verdünnungen abnehmende Mengen in enge Reagensröhrchen ähnlich wie bei der Pepsinverdauung. Ich wählte Reihen mit 6 Röhrchen. Nachdem ich dieselben so vorbereitet hatte, füllte ich in jedes 2 ccm der zuvor hergestellten Caseinlösung und ließ bei der bestimmten Temperatur verdauen. Nach Ablauf der Verdauungszeit fügte ich nach den Angaben Fulds in jedes Röhrchen 5 Tropfen der vorher angegebenen Essigsäure-Alkohollösung. In demjenigen Röhrchen, das kein unverdautes Casein mehr enthielt, mußte die Lösung völlig klar bleiben. Das Röhrchen von geringstem Trypsingehalt, das jede Trübung vermissen ließ, gab die Grenze an und diente zur Berechnung der tryptischen Kraft des untersuchten Pankreassaftes.

Der Pankreassaft entstammte einem Hunde mit permanenter Pankreasfistel und wurde sogleich nach der Entleerung völlig frisch verwandt. Der Pankreassaft war völlig klar, die vorerst ausgeführten Testversuche zeigten, daß die 10fache, 20fache und 100fache Verdünnung dieses Saftes für die Anstellung von Verdauungsversuchen nicht geeignet sei. Es wurde daher 1000fache Verdünnung des Pankreassaftes für die folgenden Verdauungsversuche gewählt.

1. Versuch bei 38° C.

Verdünnung des Pankreassaftes 1:1000. Die abnehmenden Mengen in 6 Röhrchen gefüllt, danach mit je 2 ccm der Caseinlösung versetzt, die Röhrchen zur Verdauung in ein Wasserbad gestellt für 30 Minuten. Nach der Verdauung Zusetzen von je 5 Tropfen der genannten Essigsäurealkohollösung.

1 = 1,0
2 = 0,65
3 = 0,4 —
4 = 0,25 —
5 = 0,15 —
6 = 0,1 —

2. Versuch bei 40° C.

Verdünnung 1:1000.

1 = 1,0
2 = 0,65
3 = 0,4
4 = 0,25 —
5 = 0,15 —
6 = 0,1 —

3. Versuch bei 48° C. Verdünnung 1:1000.	4. Versuch bei 52° C. Verdünnung 1:1000.
1 = 1,0	1 = 1,0
2 = 0,65	2 = 0,65
3 = 0,4	3 = 0,4
4 = 0,25	4 = 0,25
5 = 0,15 —	5 = 0,15
6 = 0,1 —	6 = 0,1 —

Auch hier sehen wir in gleicher Weise wie bei der Untersuchung der Pepsinverdauung die Fermentwirkung mit der Temperatur ansteigen, während bei 38° C 0,65 des 1000fach verdünnten Pankreassaftes notwendig war, um 2 ccm der Caseinlösung zu verdauen, ferner daß 0,4 derselben Lösung bei 40° C erforderlich war; bei 48° C sehen wir sogar 0,25 des 1000fach verdünnten Pankreassaftes den gleichen Verdauungseffekt hervorrufen. Bei 52° C genügten sogar 0,15 des Trypsins in 1000facher Verdünnung, um die 2 ccm der Caseinlösung vollständig zu verdauen.

Ich legte nun Wert darauf, auch für das Pankreasferment festzustellen, ob neben der Erhöhung der verdauenden Wirkung gleichzeitig eine Schädigung bzw. Zerstörung eines gewissen Bruchteiles des Fermentes anzunehmen ist. Ich führte diese Untersuchung in ähnlicher Weise aus wie mit dem Magensaft. Das Trypsin wurde zuerst bei bestimmten Temperaturen vorerwärmt und in einem nachfolgenden Verdauungsversuch bei 38° auf seine verdauende Wirkung geprüft. Die Vorerwärmung wurde auf 30 Minuten, auf 10 bzw. 5 Minuten ausgedehnt.

1. Versuch.

Erwärmung des Trypsins bei 40° C, 30 Min. Nachfolgender Verdauungsversuch bei 38° C.

	1 = 1,0 —
	2 = 0,65 —
1000fache	3 = 0,4 —
Verdünnung:	4 = 0,25 —
	5 = 0,15 —
	6 = 0,1 —

Sehr bemerkenswert ist das Ergebnis dieses Versuches. Während in dem obigen ersten Trypsin-Verdauungsversuch 0,65 genügten, um 2 ccm der Caseinlösung zu verdauen, hat eine 30 Minuten lange Vorerwärmung bei einer nur um 2° C höheren Temperatur (40° C) eine auffallende Verringerung der tryptischen Kraft zur Folge, und wir sehen, daß nicht einmal

1,0 der 1000fachen Pankreassaftverdünnung ausreicht, die 2 ccm der Caseinlösung zu verdauen.

2. Versuch.

Vorerwärmung des Pankreassaftes bei 40° C 10 Min. lang, in 1000facher Verdünnung. Nachfolgender Caseinverdauungsversuch bei 38° C 30 Min.

1 = 1,0
2 = 0,65 —
3 = 0,4 —
4 = 0,25 —
5 = 0,15 —
6 = 0,1 —

3. Versuch.

Vorerwärmung des Pankreassaftes bei 40° C 5 Min. Die nachfolgende Verdauung des Caseins bei 38° C im Wasserbad 30 Min.

1 = 1,0
2 = 0,65
3 = 0,4 —
4 = 0,25 —
5 = 0,15 —
6 = 0,1 —

Um mit einem ganz frischen und konstanten Material hier zu arbeiten und den besonders empfindlichen Pankreassaft vor Verderbnis zu schützen, mußte ich diese Versuchsreihe, soweit es irgendwie die Beantwortung der gestellten Frage gestattete, abkürzen. Wir erkennen aber auch schon aus den beiden letzten angeführten Versuchsreihen, daß die Verhältnisse beim Pankreassaft ähnlich liegen wie beim Magensaft. Auch hier steht einem Ansteigen der verdauenden Kraft unter Wirkung thermischer Einflüsse gleichzeitig eine Verminderung des Verdauungsvermögens eines Bruchteiles des Fermentes gegenüber.

Wenn auch eine 5 Minuten lange Vorerwärmung der angewandten Trypsinlösung im nachfolgenden Verdauungsversuch eine Verringerung der tryptischen Kraft nicht zutage treten ließ, so hatte bereits eine 10 Minuten lange Vorerwärmung (40° C) des Pankreassaftes im nachfolgenden Verdauungsversuch bei 38° C eine deutliche Schädigung der Fermentwirkung zur Folge. Gegenüber dem ersten Versuch der ersten Reihe, in dem, wie bereits hervorgehoben, 0,65 von der 1000fach verdünnten Trypsinlösung 2 ccm der Caseinlösung zu verdauen vermochten, sind nach 10 Minuten dauernder Erwärmung erst 1,0 von der Pankreasverdünnung imstande, die gleiche Menge der Caseinlösung zu verdauen. Bei der Prüfung der Resistenz des Pepsins gegenüber thermischen Einflüssen oberhalb der Körpertemperatur gelegener Wärmegrade fanden wir eine Schädigung der verdauenden Kraft, wenn eine 10fache Magensaftverdünnung 15 Minuten bei 40° C zuvor erwärmt war. Beim Pankreassaft ist zu einer ungefähr gleichen Schädigung des

Trypsins eine 10 Minuten lange Erwärmung bei 40° C ausreichend. Wir können auf Grund dieser Versuche daher sagen, daß die große Empfindlichkeit der Fermente des Magen- und Pankreassaftes schon gegenüber Temperaturerhöhungen, die um 2 bis 3° gegen die normale Körpertemperatur differieren, außerordentlich überraschen muß, und man muß es als besonders bemerkenswert betrachten, daß die Empfindlichkeit des Pankreasfermentes größer ist als die des Magensaftes.

Hinsichtlich dieser Empfindsamkeit des Pepsins und Trypsins gegen kurzdauernde (10 bis 5 Min.) Erwärmung auf Temperaturen, die oberhalb 37° gelegen, befinde ich mich in Übereinstimmung mit Biernacki[1]. Wenngleich derselbe die Temperaturen auch nicht in so engen Grenzen geprüft hat, so sind doch einige seiner Untersuchungen geeignet, zum Verständnis und zur Bestätigung meiner Resultate hier kurz erwähnt zu werden. Durch verschiedene, in vieler Hinsicht interessante Versuchsbedingungen hatte Biernacki zu ermitteln versucht, in welcher Weise die Reaktion (sauer, neutral, alkalisch) die Anwesenheit von Salzen (Ammoniaksalze und Eiweißkörper) die Resistenz der Fermente des Magen- und Pankreassaftes gegen die schädigenden Wirkungen thermischer Einflüsse zu schützen imstande ist und in einer anderen Reihe von Versuchen bei stets gleicher Reaktion und ohne Anwesenheit von Salzen und Eiweißkörpern den direkten Einfluß höherer Temperaturen auf das Pepsin und Trypsin geprüft. Die an den Fermenten vorgegangenen Veränderungen stellte auch er in einem nachfolgenden Verdauungsversuch fest. So berichtet Biernacki u. a.: „.... Wird auf diese Weise das Trypsin in alkalischer Lösung (0,25 bis 0,5% Sodalösung) von der erhöhten Temperatur beeinflußt, so genügen 50°, um seine Verdauungsfähigkeit völlig aufzuheben. Ich muß betonen, daß dabei alle spezifischen Eigenschaften des Trypsins verschwinden. Das Enzym führt weder Eiweißkörper in Albumosen und Peptone, noch die letzteren weiter in Tyrosin und Leucin über, was eine ganze Reihe von Versuchen mit Fibrin, Globulin und reiner Albumose bewies. Die Temperatur von 50° braucht einige Minuten lang auf das Trypsin zu wirken, um es zu zerstören, dagegen schwächt bereits die Temperatur von 45° nach einer 5 Minuten langen Einwirkung die Verdauungsfähigkeit des Trypsins ganz erheblich, was um so interessanter ist, als bei der angewandten Reaktion die Temperatur von 40° die Verdauung am besten befördert. Die Schwächung des Enzyms äußert sich in einer Verlangsamung des proteolytischen Prozesses, das Fibrin bedarf 2 bis 3mal längerer Frist, um aufgelöst zu werden."

In ähnlicher Weise bewies Biernacki die Empfindsamkeit des Magensaftenzyms gegen höhere Temperatur.

Es liegt nun nahe, in diesem Zusammenhang auch das Verhalten, die Resistenz und die verdauende Kraft der Ver-

[1]) Biernacki, l. c., S. 51.

dauungsfermente bei niederen Temperaturen zu erörtern. Wir sahen bereits, daß es kein bestimmtes Temperaturoptimum für die Wirkung des Pepsins und Trypsins gibt, daß wir vielmehr ein Optimum in der Breite von 36 und 38° C annehmen müssen, und ein zweites, bei dem die verdauende Wirkung noch größer, zwischen 50 und 55° C und daß die Lage des Optimums der Verdauung sich sogar verschieben kann, je nach der Reaktion und je nach der Anwesenheit gelöster Substanzen (Eiweißkörper, Salze). Wir müssen daher entnehmen, daß die biologischen Eigenschaften der Verdauungsfermente eine besondere Anpassung an die Umgebung erkennen lassen und in ihrer Entfaltung von den Einwirkungen derselben abhängig sind. So ist im allgemeinen das Pepsin des Kaltblütermagens bei tieferer Temperatur noch wirksamer als das Pepsin des Warmblüters. Während letzteres z. B. unter 10° C, wie Klug beobachtet hat, nur eine ganz minimale proteolytische Kraft entwickelt, ist das Froschpepsin noch bei 0° C energisch wirksam.

Wenn nun, wie wir sahen, das Pepsin und Trypsin durch höhere thermische Einflüsse allmählich ganz zerstört werden können und andererseits ihre Wirksamkeit bei niederen, unterhalb der Körpertemperaturen gelegenen Temperaturen allmählich abnimmt, um je nach den äußeren Einflüssen ganz zu verschwinden, so legt die Tatsache, daß es auch kein absolutes Minimum der verdauenden Kraft gibt, die Frage nahe, ob die Verdauungsfermente durch den Einfluß der Kälte in dem Sinne vernichtbar sind, wie sich das durch Erhitzen bewirken läßt, oder ob sie nach vorangehender Abkühlung auf niedrigste Temperaturen eine Schädigung ihrer verdauenden Kraft erleiden, die im nachfolgenden Verdauungsversuch bei 37° nachweisbar wäre.

Zu dieser Frage hat A. Bickel[1]) Beweismaterial beigebracht und durch eine Reihe von Versuchen Klarheit geschaffen. Bickel sammelte von einem Hunde, dem nach der Pawlowschen Methode ein sogenannter kleiner Magen angelegt war, eine größere Menge reinen Magensaftes. Ein Teil dieses Magensaftes wurde in ein Reagensglas gefüllt und auf 22 Stunden in flüssige Luft gestellt. Darauf ließ Bickel, wie er in seiner Mitteilung berichtet, den Saft wieder auftauen und bestimmte nun mit Hilfe des Mettschen Verfahrens die eiweißverdauende Kraft dieses Saftes sowie auch diejenige von Kontrollproben, die nicht der Kälteeinwirkung unterworfen waren. Es stellte sich heraus, daß ein

---

[1]) A. Bickel, Deutsche med. Wochenschr. 1904.

Unterschied in der verdauenden Kraft beider Proben nicht bestand. Das Resultat blieb dasselbe, wenn man Magensaft wiederholt durch flüssige Luft gefrieren und danach wieder auftauen ließ. Selbst durch wiederholtes Gefrierenlassen bei der Temperatur der flüssigen Luft von etwa — 160° C und Wiederauftauen (bis 6 mal innerhalb einer Stunde) ließ sich keine Abschwächung der Pepsinwirkung erzielen.

Auf Anregung von Herrn Prof. Bickel wiederholte ich diese von ihm ausgeführten Untersuchungen des Pepsins mittels der Fuldschen Methode. Außerdem prüfte ich die Resistenz des Pankreassaftes gegen niedrigste Wärmegrade nach der genannten Trypsinbestimmungsmethode und schließlich das Verhalten des Speichelfermentes Ptyalin nach der Methode von Wolgemuth.[1])

Versuch 1.

Pepsinverdauungsversuch als Testversuch bei 38° C. Kindlicher Magensaft, 10fache Verdünnung.

10fache Verdünnung.
1 = 1,0
2 = 0,65
3 = 0,40
4 = 0,25 —
5 = 0,15 —
6 = 0,10 —

Versuch 1a.

Der 10fach verdünnte kindliche Magensaft wird in flüssiger Luft zum Gefrieren gebracht. Nach 30 Minuten Wiederauftauen nachfolgende Edestinverdauung in 6 Reagensröhrchen, ebenfalls bei 38° C.

1 = 1,0
2 = 0,65
3 = 0,40
4 = 0,25 —
5 = 0,15 —
6 = 0,1 —

Versuch 2.

Frischer Pankreassaft in 1000facher Verdünnung zur Caseinverdauung, nach Fuld in ein Wasserbad von 38° C gesetzt; 30 Minuten. Der Pankreassaft war einem Pankreasfistelhund entnommen.

1 = 1,0
2 = 0,65
3 = 0,40 —
4 = 0,25 —
5 = 0,15 —
6 = 0,1 —

Versuch 2a.

Gefrierenlassen des Pankreassaftes von der gleichen Probe in flüssiger Luft; 30 Minuten. Nachfolgender Verdauungsversuch in 1000facher Verdünnung bei 38° C.

1 = 1,0
2 = 0,65
3 = 0,40 —
4 = 0,25 —
5 = 0,15 —
6 = 0,1 —

Versuch 3 und 3a.

Eine 20fache Verdünnung von Speichel zur Stärkeverdauung bei 38° C angesetzt.

Im Kontrollversuch wird die gleiche Verdünnung des Speichels zum Gefrieren in flüssiger Luft gebracht und danach durch einen Verdauungsversuch bei 38° C geprüft.

3. Testversuch.

1 = 0,05
2 = 0,032
3 = 0,02
4 = 0,0125
5 = 0,008 —
6 = 0,005 —

3a. Nach dem Gefrieren und Wiederauftauen.

1 = 0,05
2 = 0,032
3 = 0,02
4 = 0,0125
5 = 0,008 —
6 = 0,005 —

[1]) Wohlgemuth, diese Zeitschrift 1907.

Wir sehen aus dieser Versuchsreihe, daß unter Anwendung dieser feinsten Untersuchungsmethoden das Ferment des Speichels, des Magensaftes und Pankreassaftes selbst nach vorausgehender Einwirkung der tiefsten Temperaturen (flüssige Luft = — 160° C) auch nicht den geringsten Schaden erleiden. Die Versuche ergeben demnach eine vollkommene Bestätigung der Beobachtung, die Bickel[1]) unter Anwendung des Mettschen Verfahrens angestellt hatte.

Während also z. B. die verdauende Kraft des Magensaftes auch bei den Temperaturen unterhalb 37° bis 10° und bis 0° C eine deutliche Abhängigkeit von thermischen Einflüssen erkennen läßt, ist die Resistenz sogar bei der direkten Einwirkung tiefster Kälte eine absolute. Auch von dem Trypsin und Ptyalin können wir sagen, daß die dem Gefrieren nachfolgenden Verdauungsversuche eine Unvernichtbarkeit erwiesen haben. Gegenüber dieser Unvernichtbarkeit durch tiefste Temperaturen muß die hohe Empfindsamkeit gegenüber den Wärmegraden oberhalb der Körpertemperatur, 37° C, wie sie von uns für Pepsin und Trypsin und von Biernacki in ähnlicher Weise für das Ptyalin nachgewiesen ist, unser größtes Interesse beanspruchen. Sämtliche Versuchsreihen, in denen ich die Frage zu beantworten suchte, inwieweit oberhalb 37° C gelegene Temperaturen die verdauende Wirkung des Magen- und Pankreassaftes zu schädigen imstande sind, haben in eindeutiger Weise die leichte Zerstörbarkeit der Fermente durch den thermischen Einfluß höherer Temperaturen ergeben; namentlich haben die letzten Reihen der Pepsin- und Trypsinverdauung uns gezeigt, daß Magen- und Pankreassaft sogar schon bei den nur um einige Grade von der Körpertemperatur abweichenden Wärmegraden Schaden erleiden können. An dieser Beobachtung können wir erkennen, daß bei den Warmblütern für die Verhältnisse in vivo die Körpertemperatur von 37° zweifellos ein Temperaturoptimum der Verdauung darstellt.

Aus jener experimentell erwiesenen Empfindsamkeit der Verdauungsfermente gegen thermische Einflüsse, die nur wenig gegenüber 37° C differieren, läßt sich vielleicht die Vermutung schöpfen, daß dieses Temperaturoptimum in Frage gestellt ist, sobald der Körper, wie z. B. in Krankheitszuständen, seine Temperatur wech-

[1]) Bickel, l. c.

selt. Im Fieber wäre die Möglichkeit vorhanden, daß die verdauende Wirkung des Pepsins und Trypsins durch die Einflüsse der erhöhten Körpertemperatur beeinträchtigt, dieselben angesichts der länger dauernden Einwirkung bis über 38 oder 40° C erhöhter Fiebertemperaturen in ihrem Bestand gefährdet werden und zum Teil zugrunde gehen können. Dabei drängt sich uns die fernere Frage auf, wie weit in analoger Weise, wie das Pepsin und Trypsin, andere Fermente des Körpers, speziell die beim Zellstoffwechsel beteiligten Enzyme, durch die Fiebertemperatur geschädigt werden. Eine Untersuchung dieser Frage scheint mir vielleicht geeignet, uns nähere Aufschlüsse über die Genese der beim Fieber beobachteten Stoffwechselstörungen zu geben.

Zusammenfassung.

Aus meinen Untersuchungen ergibt sich:

1. Die verdauende Kraft der Verdauungsenzyme, Pepsin und Trypsin, steht im geraden Verhältnis zur Höhe der Temperatur. Sie steigt auch bei Temperaturerhöhung über 40° C kontinuierlich an. Das Optimum der Verdauung liegt nicht, wie bisher angenommen, bei 40°, sondern bei 50 bis 55° C.

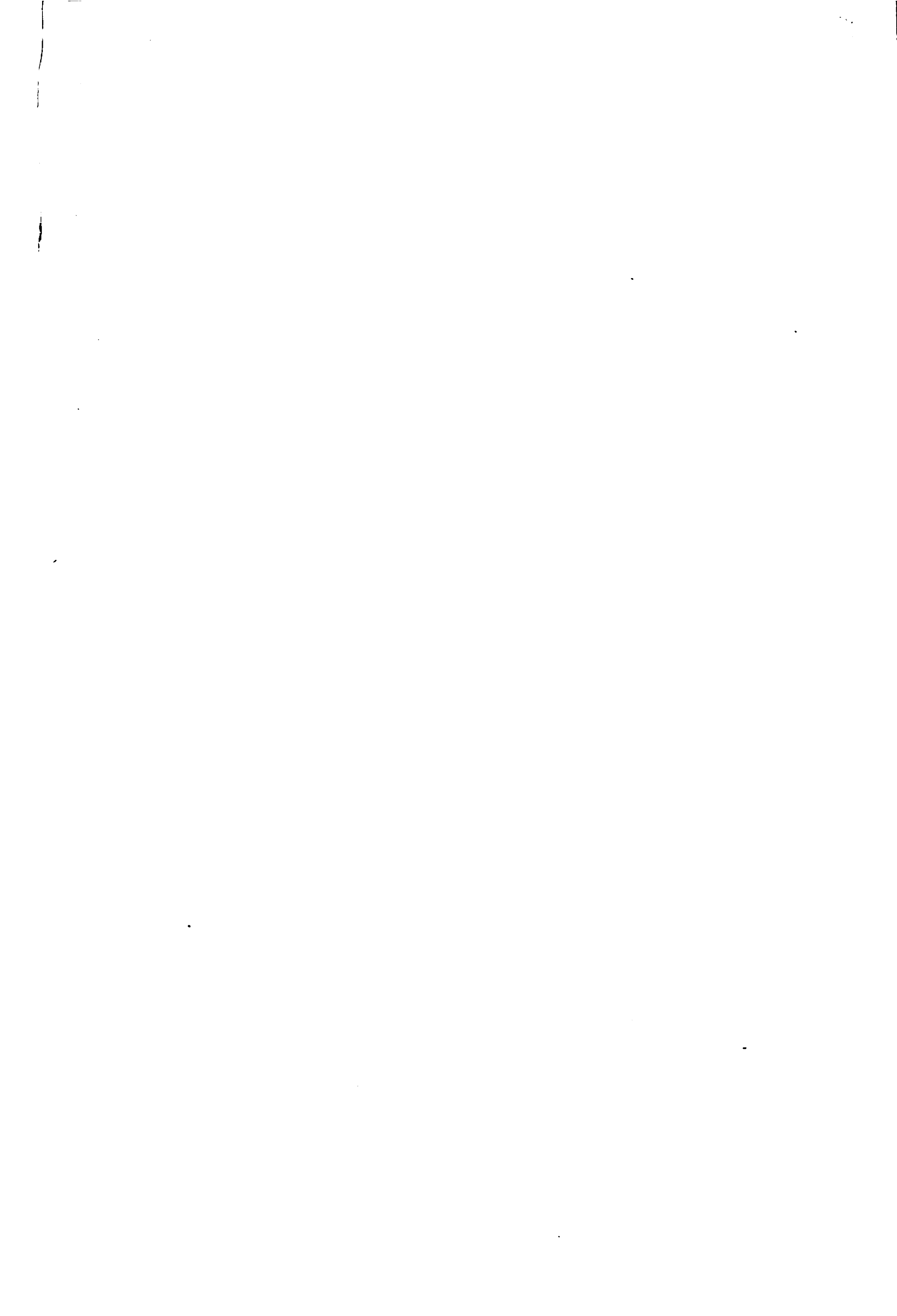
2. Höhere Temperaturen, d. h. diejenigen über 37° C, lassen eine Schwächung der verdauenden Kraft der Enzyme erkennen. Wenige Minuten dauernde Einwirkung der Temperaturen zwischen 40 bis 42° C hatte das Pepsin und Trypsin geschädigt.

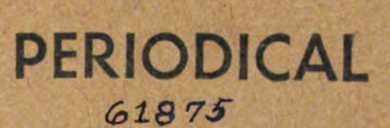
3. Das Trypsin zeigt in den Versuchen eine größere Empfindsamkeit gegenüber thermischen Einflüssen als das Pepsin.

4. Bei Gefrierenlassen mittels tiefster Kälte (flüssige Luft) erweisen sich Pepsin, Trypsin und Ptyalin als unvernichtbar.

5. Der menschliche Magensaft (kindliche) zeigt bei kurzdauernder Einwirkung von Temperaturen, die oberhalb der Körpertemperatur (37° C) von derselben nur um 2 bis 3° differieren, eine gleich geringe Resistenz wie der Hundemagensaft.

Autorenverzeichnis.




PERIODICAL

